

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA:
INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERO AMBIENTAL**

**TEMA:
DETECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE USO ANIMAL Y HUMANO COMO
CONTAMINANTES EMERGENTES EN LOS RÍOS DEL DISTRITO DE
SALUD 07D04 (ECUADOR) CANTONES BALSAS, MARCABELÍ Y PIÑAS**

**AUTOR:
ANDRÉS APARÍCIO SILVA ORDOÑEZ**

**TUTOR:
PATRICIA MARIBEL GUTIÉRREZ SALAZAR**

Quito, septiembre del 2019

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Andrés Aparicio Silva Ordoñez, con documento de identificación N° 070633794-6; manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación intitulado: DETECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE USO ANIMAL Y HUMANO COMO CONTAMINANTES EMERGENTES EN LOS RÍOS DEL DISTRITO DE SALUD 07D04 (ECUADOR) CANTONES BALSAS, MARCABELÍ Y PIÑAS, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: INGENIERO AMBIENTAL, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



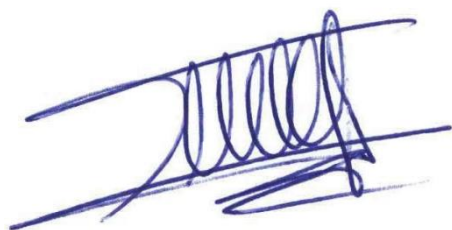
.....
Andrés Aparicio Silva Ordoñez
0706337946

Septiembre, 2019

DECLARATORIA DE COAUTORÍA DEL DOCENTE TUTOR/A

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el Trabajo Experimental, DETECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE USO ANIMAL Y HUMANO COMO CONTAMINANTES EMERGENTES EN LOS RÍOS DEL DISTRITO DE SALUD 07D04 (ECUADOR) CANTONES BALSAS, MARCABELÍ Y PIÑAS, realizado por Andrés Aparicio Silva Ordoñez, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, septiembre 2019



.....
Patricia Maribel Gutiérrez Salazar
1718427220

AGRADECIMIENTO

Al finalizar este proyecto quiero primero agradecer a Dios por bendecirme e iluminar este arduo camino y lograr terminar con el proyecto, a mis papás Margarita Ordoñez y Wilson Silva que con su esfuerzo y constancia me han sabido forjar de buenos valores para lograr a conseguir cada una de mis metas. De igual manera a mis hermanos José y Sebastián que con su ayuda incondicional y desinteresada han permitido que pueda culminar mi carrera universitaria.

A mis tíos Marianita y Hugo quienes se convirtieron en mis segundos padres ya que ellos me abrieron las puertas no solo de su hogar sino de su corazón dejándome compartir sus alegrías y tristezas, además a mis primos Alexita, Jose Luis e Isita porque ellos fueron mis hermanos y amigos que me brindaron su apoyo, consejos y enseñanzas.

Isita y Carlos por siempre estar al pendiente de mi salud, educación y por haberme hecho parte de su familia dejándome compartir momentos únicos que llevaré siempre en mi corazón, con sus hijitas que a más de ser mis primas pasaron a ser mis dos hermanitas Domita y Agustina estás dos hermosas niñas que con sus ocurrencias me sacaron más de una sonrisa. Sé que Dios siempre los va a bendecir.

De igual manera a la señora Lupita y Don Huguito que también han sido parte fundamental dentro de mi vida profesional y dejándome compartir con su familia y sus hijos Huguito y Mari.

A mi tía Yobana y a mis primos Katherine, Cecibel, Byron y Brayan, que son un ejemplo me enseñaron que se puede salir adelante con la bendición de Dios y el esfuerzo de uno mismo. De igual forma a mi abuelita Melba que ella con su humildad

y oraciones siempre me tiene presente. Y a cada uno de mis familiares que han sido partícipes de este logro alcanzado.

Al personal docente de la carrera de ingeniería Ambiental que en todo este tiempo, supieron impartir su conocimiento para fortalecer mi formación académica, en especial a mi tutora la docente Patricia Gutiérrez que por su colaboración pude concluir este trabajo de investigación. A los ayudantes de laboratorio de Ingeniería Ambiental, por prestar su ayuda en las prácticas investigativas. A Panchito, Silvi, Pablito, Valeria y todo el equipo humano que conforman la Pastoral Universitaria del campus Sur y los grupos ASU que con cada uno de ellos compartimos momentos únicos, en especial con el Club Ambiental.

A mis amigos, colegas y compañeros de estudio, que se han convertido como mis hermanos a Richard Arrieta, Christian Lanchimba, Luis Basantes, Paúl Castillo, Kevin García, Jefferson Gallegos, Francisco Méndez, Sebastián Medina, Ronal Correa, Jou Constante y Edgar Amaguaña.

Finalmente hago el extenso agradecimiento a cada una de las instituciones que brindaron su apoyo de una u otra manera, dentro del campo de investigación a los GAD Municipales de Piñas, Balsas y Marcabelí.

DEDICATORIA.

El presente trabajo está dedicado a Dios, a mis Padres Silva Wilson y Ordoñez Margarita, quienes siempre serán mi fortaleza para seguir triunfando en la vida.

De igual manera a cada uno de mis familiares, que con sus consejos han podido guiarme en el camino de la vida. Y a todas las personas especiales que han aportado en mi formación humana y profesional.

Gracias a todos por ser partícipes de este logro.

ÍNDICE:

RESUMEN	xxi
ABSTRACT	xxii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo General.	12
2.2 Objetivo Específicos.	12
3. MARCO TEÓRICO	13
3.1 Parámetros de Calidad de Agua:	13
3.1.1 pH:	13
3.1.2 Potencial Oxido Reducción:	13
3.1.3 Oxígeno Disuelto:	13
3.1.4 Turbiedad:	14
3.1.5 Temperatura:	14
3.1.6 Microbiología del Agua:	14
3.1.6.1 Coliformes:	14
3.2 Contaminantes emergentes	15
3.3 Antibióticos	17
3.4 Comportamiento ambiental de los antibióticos	18
3.5 Prueba Rápida de Tira para residuos de antibióticos beta-lactama, tetraciclina y sulfonamida.	22
3.6 Curvas de Calibración	22

4. MATERIALES Y MÉTODOS	24
4.1 Materiales:	24
4.1.1 Materiales para etapa de Muestreo:	24
4.1.2 Materiales para etapa de análisis de laboratorio.	24
4.1.3 Equipos Utilizados	25
4.2 Metodología:	25
4.2.1 Metodología de Campo	25
4.2.1.1 Localización y Descripción del Área de Estudio.	25
4.2.1.2 Selección del Área de Estudio:	27
4.2.1.3 Determinación de la Muestra:	30
4.2.1.4 Detección de Antibióticos:	31
4.4 Trabajo de laboratorio	32
4.4.1 Preparación del Agar	32
4.4.2 Preparación de las muestras para siembra	33
4.4.3 Preparación de las Curvas de Calibración	34
4.4.3.1 Preparación de la muestra “Blanco”	34
4.4.3.2 Análisis por medio del Software:	35
4.4.3.2.1 Elaboración de Mapas Ilustrativos:	36
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5.1 Resultados de Parámetros Fisicoquímicos y presencia de Antibióticos.	37
5.1.1 Relaciones Parámetros de Calidad vs Tiempo	42
5.1.1.1 pH vs. Tiempo	42
5.1.1.2 Temperatura vs. Tiempo	42
5.1.1.3 Potencial Oxido Reducción vs. Tiempo.	43

5.1.1.4 Oxígeno Disuelto (mg/l) vs. Tiempo.	44
5.1.1.5 Relación Turbidez (NTU) – Tiempo	45
5.2 Resultados Análisis Microbiológico	46
5.2.1 Relación de las unidades formadoras de colonias [UFC]	49
5.3 Resultados de la Estimación de Antibióticos	54
5.3.1 Datos de la muestra “Blanco”	54
5.3.2 Resultados de Curvas de Calibración	55
5.3.3 Resultados de la estimación de antibióticos	58
5.3.3.1 Relación concentración vs tiempo	62
5.3.3.1.1 Antibióticos Betalactámicos	62
5.3.3.1.2 Antibióticos Sulfamidas	67
5.3.3.1.3 Antibióticos Tetraciclinas:	71
5.3.4 Resultados de mapas ilustrativos.	76
5.3.4.1 Condición de la Presencia de los Antibióticos Betalactámicos:	76
5.3.4.2 Condición de la Presencia de los Antibióticos Sulfamidas:	77
5.3.4.3 Condición de la Presencia de los Antibióticos Tetraciclinas:	78
5.3.5 Concentración [UFC] ante la presencia de antibióticos.	79
5.3.6 Relación Tiempo, UFC y Antibióticos (betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas):	82
5.3.6.1 Tiempo, UFC y Betalactámicos	83
5.3.6.2 Tiempo, UFC y Sulfamidas	84
5.3.6.3 Tiempo, UFC y Tetraciclinas	86
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	89
6.1 Conclusiones:	89

6.2 Recomendaciones:	91
7. BIBLIOGRAFÍA	92
8. ANEXOS	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clases de contaminantes emergentes	16
Tabla 2 Materiales ocupados en la etapa de muestreo.	24
Tabla 3 Materiales ocupados en la etapa de análisis de laboratorio	24
Tabla 4 Equipos de laboratorio utilizados.....	25
Tabla 5. S. Coordenadas de ubicación para los puntos de muestreo.....	28
Tabla 6. Datos promedios del mes de abril, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.	38
Tabla 7. Datos promedios del mes de mayo, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos, donde tetraciclinas no fueron encontradas en el cantón Piñas. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.....	39
Tabla 8. Datos promedios del mes de junio, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.	40
Tabla 9. Datos promedios del mes de junio, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.	41
Tabla 10 Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de mayo.	46

Tabla 11. Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de junio.	47
Tabla 12. Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de agosto.	48
Tabla 13. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para betalactámicos.	54
Tabla 14. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para sulfamidas.	54
Tabla 15. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para tetraciclinas.	55
Tabla 16. Concentración de antibióticos del mes de abril, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.	59
Tabla 17. Concentración de antibióticos del mes de mayo, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.	59
Tabla 18. Concentración de antibióticos del mes de junio, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.	60
Tabla 19. Concentración de antibióticos del mes de agosto, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.	60
Tabla 20. Concentraciones de Betalactámicos y valores de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de los betalactámicos.	83
Tabla 21. Concentraciones de Sulfamidas y de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de las sulfamidas.	85

Tabla 22. Concentraciones de Tetraciclinas y valores de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de las tetraciclinas.	87
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Unidad Hidrogeológica Distrito Salud 07D04 (Ecuador) Cantones Balsas, Marcabelí y Piñas.....	11
Figura 2. Ciclo Hidrológico de los antibióticos.	20
Figura 3. Localización del proyecto en el cantón Balsas.	25
Figura 4. Localización del Proyecto en el cantón Marcabelí.	26
Figura 5. Localización del Proyecto en el cantón Piñas.....	27
Figura 6. Interpretación visual de resultados, según el tipo de antibiótico y de su presencia o ausencia que se establezca.	31
Figura 7. Procedimiento para la siembra y cultivo de microorganismos.	34
Figura 8 Procedimiento para la obtención de la muestra "Blanco" para cada uno de los antibióticos (betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas)	35
Figura 9. Gráfica correspondiente a la relación pH y el tiempo durante los meses de estudio.	42
Figura 10. Gráfica que proporciona la relación de la temperatura y el tiempo durante los meses de estudio.	43
Figura 11. Gráfica que proporciona la relación de los valores de potencial oxido reducción altos y el tiempo durante los meses de estudio.....	44
Figura 12. Gráfica que proporciona la relación de los valores altos de oxígeno disuelto y el tiempo durante los meses de estudio.	45
Figura 13. Gráfica que proporciona la relación de los valores altos de turbidez y el tiempo durante los meses de estudio.	46
Figura 14. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en los puntos de captación de las distintas ciudades.....	50

Figura 15. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades.....	51
Figura 16. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades.....	52
Figura 17. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de los distintas ciudades.	53
Figura 18. Obtención de la Curva de calibración de betalactámicos con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.	56
Figura 19. Obtención de la Curva de calibración de sulfamidas con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.	57
Figura 20. Obtención de la Curva de calibración de tetraciclinas con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.	58
Figura 21. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en los puntos de captación de las distintas ciudades.	64
Figura 22. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades.....	65
Figura 23. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades.....	66

Figura 24. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de los distintas ciudades.	67
Figura 25. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de sulfamidas en los puntos de captación de las distintas ciudades. ..	68
Figura 26. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de sulfamidas en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades.	69
Figura 27. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades.	70
Figura 28. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de los distintas ciudades.	71
Figura 29. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de Tetraciclinas en los puntos de captación de las distintas ciudades. No se considera el punto ADCB en los meses abril y junio por que el valor fue de 0, el punto ADCM en cambio tuvo valores de 0 en los meses de mayo y agosto, y finalmente el punto ADCP en el mes de mayo y agosto tuvo valores de 0 por lo cual no se considera en estos meses esos valores.	72
Figura 30. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades. En el punto ADCM ₍₊₁₀₀₎ no se considera los meses de abril y junio donde tuvieron valores de 0, de igual forma el punto ADCP ₍₊₁₀₀₎ en los meses de mayo y agosto presentaron valores de 0.	73

Figura 31. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades. El punto $ARB_{(-100)}$ en los meses de mayo y junio los valores fueron de 0, por lo cual no se los considera. El punto $ARM_{(-100)}$ en los meses de mayo y agosto sus valores fueron de 0, por lo cual no son tomados en cuenta. Finalmente en el punto $ARP_{(-100)}$ únicamente en el mes de mayo se dio el valor de 0.....	74
Figura 32. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de los distintas ciudades. En el punto $ARB_{(+100)}$ en el mes de mayo se determinó el valor de 0, por ese motivo no se considera en este mes, en el punto $ARM_{(+100)}$ se obtuvieron valores de 0 en el mes de agosto, por lo cual no se considera para este mes. Finalmente el punto $ARP_{(+100)}$ no se considera en el mes de mayo y agosto donde los valores fueron de 0, por lo cual no se considera para estos meses.	75
Figura 33. Programación para prueba no paramétrica de los datos en R Studio.	80
Figura 34. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de betalactámicos[mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].....	81
Figura 35. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de sulfamidas [mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].	81
Figura 36. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de tetraciclinas[mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].	82
Figura 37. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo, valores de UFC y la concentración de betalactámicos dentro de los meses de estudio mayo junio y agosto, el mes de abril no se encuentra presente ya que no existió presencia de UFC.....	84

Figura 38. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo, valores de UFC y la concentración de sulfamidas dentro de los meses de estudio mayo junio y agosto, el mes de abril no se encuentra presente ya que no existió presencia de UFC.

..... 86

Figura 39. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo (mayo, junio y agosto), valores de UFC y la concentración de tetraciclinas de todos los puntos muestreados en el área de estudio. 88

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1: Toma de muestras, medición y conservación.....	102
Anexo 2: Equipos e instrumentos utilizados en campo.	106
Anexo 3: Procedimiento de como ocupar el kit Auro Flow.	107
Anexo 4: Composición del Agar MacConkey y PCA utilizado para la siembra de los microorganismos.	108
Anexo 5: Materiales y Procedimiento de Laboratorio	109
Anexo 6: Imágenes de los resultados positivos de los cultivos y siembras de las captaciones, ríos, quebradas (meses de mayo, junio y agosto).	111
Anexo 7: Imágenes de las tiras para el análisis con el Programa R studio para determinar la muestra en blanco para la curva de calibración.	120
Anexo 8: Datos de la programación y análisis de la muestra “blanco” para determinación de la curva de calibración y estimación de la concentración de antibióticos.	121
Anexo 9: Imágenes de las tiras para el análisis en el programa R studio para determinar la cantidad de residuos en los puntos de muestreo de los 3 cantones.	122
Anexo 10 :Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.	126
Anexo 11: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.....	126
Anexo 12: Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.	127
Anexo 13: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.	127

Anexo 14: Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	128
Anexo 15: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	128
Anexo 16: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.	129
Anexo 17: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.	129
Anexo 18: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.	130
Anexo 19: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.....	130
Anexo 20: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	131
Anexo 21: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	131
Anexo 22: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.	132
Anexo 23: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.....	132
Anexo 24: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.	133
Anexo 25: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabelí.	133

Anexo 26: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	134
Anexo 27: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.	134
Anexo 28: Pruebas de Normalidad realizada con el Programa R Studio.....	135

RESUMEN

El aumento poblacional y el crecimiento de actividades agrícolas – ganaderas, generan aguas con la presencia de contaminantes emergentes como antibióticos que, aunque tengan concentraciones bajas producen afectaciones en el ecosistema.

Este trabajo experimental se realizó en el distrito de salud 07D04. Se determinó la presencia de antibióticos con el kit AuroFlow™ BTS Combo, utilizando las bandas de detección, que este incluye. Estas fueron fotografiadas en condiciones de luz y distancia focal similares, para ser ingresadas en formato de imagen JPG, traducidas a ráster en el programa R studio, con el cual se examinaron las bandas usadas para el muestro generando un modelo de curvas de calibración con las respectivas ecuaciones para cada uno de estos, estimando su concentración en los puntos de muestreo para zonas de captación y zonas de descarga.

Las 48 muestras analizadas presentaron un resultado positivo, de la siguiente manera: 48 positivas de betalactámicos, 46 de sulfamidas y 29 de tetraciclinas, considerando que, en muchos de los puntos, en la misma banda de detección se encontraron los tres tipos de antibióticos.

Una vez que se estimaron las concentraciones, los puntos con mayor presencia de contaminantes fueron en las descargas de aguas residuales urbanas, industriales, hospitalarias, ganaderas y agrícolas, estos puntos son: Quebrada Santa Elena, Río Piñas y Río Marcabelí.

Es importante mencionar que este estudio debe ser considerado como alternativa para la estimación de antibióticos en comparación con métodos analíticos como cromatografía líquida (HPLC) utilizados para análisis de antibióticos en alimentos y medio ambiente.

ABSTRACT

The population increase and the growth of agricultural and livestock activities generate waters with the presence of emerging pollutants such as antibiotics that, although they have low concentrations, cause effects on the ecosystem.

This experimental work was carried out in the health district 07D04. The presence of antibiotics was determined with the AuroFlow TM BTS Combo kit, using the detection bands, which it includes. These were photographed in similar light and focal length conditions, to be entered in JPG image format, translated to raster in the R studio program, with the bands used for sampling were examined generating a model of calibration curves with the respective equations for each of these, estimating their concentration at the sampling points for catchment areas and discharge areas.

The 48 samples analyzed showed a positive result, as follows: 48 positive beta-lactams, 46 sulphonamides and 29 tetracyclines, considering that, in many of the points, the three types of antibiotics were found in the same detection band.

Once the concentrations were estimated, the points with the highest presence of pollutants were in urban, industrial, hospital, livestock and agricultural wastewater discharges, these points are: Santa Elena Creek, Piñas River and Marcabelí River.

It is important to mention that this study should be considered as an alternative for the estimation of antibiotics compared to analytical methods such as liquid chromatography (HPLC) used for antibiotic analysis in food and the environment.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS

ADCP: Agua para uso Doméstico Captación Piñas

ADCP₍₊₁₀₀₎: Agua Doméstica 100 metros después de la Captación, Mercado Central Piñas

ARP₍₋₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros antes del camal de Piñas

ARP₍₊₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros después del camal de Piñas

ADCB: Agua para uso Doméstico Captación Balsas

ADCB₍₊₁₀₀₎: Agua Doméstica 100 metros después de la Captación de Balsas

ARB₍₋₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros antes del camal de Balsas

ARB₍₊₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros después del camal de Balsas

ADCM: Agua para uso Doméstico Captación Marcabelí

ADCM₍₊₁₀₀₎: Agua Doméstica 100 metros después de la Captación de Marcabelí

ARM₍₋₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros antes del camal de Marcabelí

ARM₍₊₁₀₀₎: Aguas Residuales 100 metros después del camal de Marcabelí

B: Betalactámicos.

CNA: Cámara Nacional de Acuicultura.

CODEX: Códigos de Comportamientos, Directrices y Recomendaciones de la Comisión del Codex Alimentarius

EPA: Environmental Protection Agency

INEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos

LMR: Límite Máximo Permisible.

OD: Oxígeno Disuelto.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PDOT: Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial

PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

S: Sulfamidas.

T: Tetraciclinas.

UFC: Unidades Formadores de Colonia.

UE: Unión Europea

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional y productivo del Ecuador ha provocado la degradación y contaminación de los ecosistemas. El desarrollo de las actividades productivas como agrícolas-ganaderas, avícolas y porcícolas generan residuos que son vertidos directamente a los cuerpos de agua y alteran estos sistemas acuáticos (CEPAL, 2012)

La contaminación de estas aguas además de ser biológica también es química; estas sustancias químicas que generan daños en la salud humana, proceden de campos agrícolas, que contienen residuos de antibióticos, insecticidas y fertilizantes. (Gomez Duarte, 2018, pág. 66).

“Los antibióticos no necesitan estar constantemente en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/eliminación se pueden compensar por su continua entrada al medio ambiente, por lo que se les considera como contaminantes “pseudopersistentes”(Herrera-Herrera, Hernández-Borges, Borges-Miquel, & Rodríguez-Delgado, 2013).

Para poder comprender cómo se crean los antibióticos, tuvo que desarrollarse varias investigaciones para determinar las patologías. La aparición de los agentes terapéuticos específicos y su revolución en la historia de la medicina permitió crear la “Teoría Microbiana de la Enfermedad” (Belloso, 2009) . En 1941 año considerado como la edad de oro de los antibióticos, fue la época de mayor producción de penicilina y eficiencia en los ensayos clínicos. (Patiño, 2003).

El incremento en el uso indiscriminado de los antibióticos y la respectiva presión selectiva que ejercen, es el factor más importante que contribuye en la aparición de diversas clases de resistencia bacteriana. (Cabrera, Fabian , & Zuñiga, 2007, pág. 38).

Es así como en la década de 1960 estudios realizados por Watanabe y Anderson, Datta y Smith, en Japón e Inglaterra respetivamente, basados en el estudio previo de Lederberg; demostrarían la transmisión horizontal de los genes de resistencia a antibióticos de manera epidémica entre diferentes poblaciones y especies bacterianas, incluyendo patógenos animales y humanos (Mäkelä, Lederberg, & Lederberg, 1962). Estas investigaciones comprobaron que el uso de antibióticos en la crianza industrial de animales influía negativamente en la salud humana y animal, provocando bacterias zoonóticas, que adquieren genes de resistencia a antibióticos y son transmitidos a patógenos humanos (Anderson, 1968a). Muchos de los animales que son criados en granjas se encuentra expuestos a diferentes antibióticos durante su curso de producción, ya sea para minimizar infecciones y enfermedades, pero especialmente para tratar el ambiente donde se van a desarrollar, y finalmente son utilizados como suplemento alimenticio para un crecimiento acelerado del animal. (Belloso, 2009).

Los antibióticos juntamente con los fármacos están considerados como contaminantes emergentes, algunos de estos tipos de contaminantes pueden presentar alteraciones endocrinas, entre los que se incluyen pesticidas, productos químicos industriales y productos fitoquímicos (Becerril Bravo, 2009). En la mayoría de estos contaminantes emergentes, la incidencia, la contribución de riesgo y los datos ecotoxicológicos, no están disponibles; así que es difícil predecir qué efectos de salud pueden tener en seres humanos y organismos acuáticos (Petrović, Gonzalez, & Barceló, 2003).

El desarrollo de métodos y análisis ha permitido ver la presencia de estos contaminantes, que se les cataloga globalmente como emergentes en el medio ambiente y sistemas acuáticos, estos estudios se encuentran entre prioritarios dentro de las investigaciones que realizan organismos para la protección de la salud pública

y medio ambiental tales como: OMS, EPA o la Comisión Europea, ya que a pesar de que se los establece como desconocidos en la medio ambiente, si existe la preocupación de las consecuencias que puede causar. (Barcelo & López, 2012).

Los contaminantes emergentes que generan mayor preocupación son los fármacos, debido a sus características fisicoquímicas, estos pueden alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos (Barceló & López, 2012). El consumo desmedido de los fármacos, entre ellos los antibióticos que ocupan el tercer puesto en volumen de uso de todos los fármacos empleados en la medicina humana; y el 70% de los empleados en medicina veterinaria (Becerril Bravo, 2012). Los antibióticos como la penicilina, sulfonamidas y tetraciclina, encontrados en muy bajas concentraciones tienen efectos significativos, por lo que es necesario implementar adecuados diseños de tratamientos de aguas para una eficiente remoción. (Acevedo , 2014, pág. 48).

El agua es un recurso que debe estar disponible en cantidad como en calidad (Barcelo & López, 2012) . Siendo necesaria la implementación de medidas legislativas que ayuden al control y regulación de los diferentes desechos peligrosos que puedan contener genes que vuelven a las bacterias resistentes. Actualmente, los límites legales que se han establecido para los antibióticos en los alimentos comprenden un rango entre 4-1500 ug/kg para la leche y 25-6000 ug/kg para los otros alimentos de origen animal, pero no hay una legislación que aplique a los medios acuosos. (Herrera , 2013).

Los componentes farmacéuticos activos en el ambiente acuático se han convertido actualmente en un evento emergente en la química ambiental, la presencia de estos compuestos está generando problemas de resistencia antibiótica, alteraciones a los procesos biológicos (Moreno , y otros, 2013) . Los sistemas de abastecimiento de aguas superficiales de los cantones Balsas, Marcabelí y Piñas, han aumento

considerablemente los niveles de contaminación biológica y química, por lo que se consideró oportuno el monitoreo y control a través de muestreos en los cuerpos de agua, de acuerdo a la siguiente distribución: quebrada “Santa Elena”; cantón Balsas, quebrada “El Caucho” y río “Marcabelí”, cantón Marcabelí; quebradas “Chiral”, “Las Chontas”, “El Palmal”, “Honda” “Honda 1”, “Honda 2” y “Honda 3”, y el río “Piñas” ,cantón Piñas.

El agua de la quebrada “Santa Elena” es tratada en la planta de potabilización que lleva su mismo nombre, está vertiente continúa por toda la cabecera cantonal; por esta razón las aguas residuales de la zona urbana son vertidas en este cauce que confluyen con el río “Balsas” cerca de la parroquia “Bella María”.

El agua proveniente de la quebrada “El Caucho” es tratada en la planta de potabilización del cantón “Marcabelí”, cerca de esta vertiente se desarrolla actividades agrícolas, ganaderas, avícolas y porcinas, por lo que el cauce del río Marcabelí cruza gran parte de la cabecera cantonal, siendo el que recibe mayores descargas de aguas grises de hospital, de la zona urbana y del camal municipal.

El cantón Piñas posee 7 vertientes de agua que son las quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, además las quebradas El Palmal, La Chiral y Las Chontas, estas vertientes confluyen en la Planta de Potabilización del cantón para ser tratadas y distribuidas en la cabecera cantonal, el cauce del río Piñas cruza por gran parte de la ciudad y es el que recibe las descargas de aguas servidas del sector urbano, hospitalario, agrícola e industrias ganaderas, avícolas y porcinas.

La calidad de agua se ve alterada por el vertido de aguas residuales, pero también por la disposición final de residuos sólidos y agroquímicos que por escorrentía se filtran a los cuerpos de agua provenientes de las distintas zonas de captación, las

mismas que reciben tratamientos convencionales en las plantas de potabilización, después de ser utilizadas en la zonas urbanas, pasan a ser aguas residuales y posteriormente se descargan directamente, sin tratamiento previo.

Con todos estos precedentes, se considera importante realizar este proyecto, como un estudio “alternativo experimental”, donde se utilizó el kit AuroFlow™ BTS Combo, para determinar la presencia de antibióticos, posteriormente a través del programa R studio; se examinó imágenes ráster de las bandas usadas para el muestro, estas fueron esenciales para realizar el análisis de la concentración. Este procedimiento es similar a la utilización de imágenes espectrales, que están presentes como alternativa al estudio de cultivos, bosques, contaminación de suelos, incendios forestales, entre otras, fomentando el desarrollo de nuevas aplicaciones para el entendimiento de los ecosistemas. (Peña, Ostertag, Gandullo, & Campo, 2015), con la finalidad de contribuir con ideas que puedan generar un posible tratamiento eficiente para la descontaminación de los ríos.

A continuación se presenta las características de los cantones estudiados:

El cantón Balsas está ubicado al sur de la provincia de El Oro, se encuentra conformado por la parroquia urbana Balsas y la parroquia rural de Bella María (Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

Los límites del cantón Balsas son: Norte y Oeste con el cantón Piñas, al Este con el cantón Marcabelí, y al sur con la Provincia de Loja (Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

El cantón Balsas presenta una altitud de 670 ms.n.m., en la zona ecuatorial meso térmico semi-húmedo, temperatura media del mes más frío supera los 18°C, y la media anual se sitúa por encima de los 21°C, las precipitaciones anuales sobrepasan los 1300

mm, ecosistema fluvial, tiene importante red de quebradas como: La Esperanza, Santa Elena, El Milagro, Las Acacias, San Roquito, Tinajas y Pálmales nacidas de las cordilleras Aguacatillo, San José, La Esperanza, Ventanitas, Milagro y Santa Elena, de las que derivan sus nombres, dan origen al Río Balsas que desemboca al Río Puyango . (Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

La superficie del cantón Balsas es de 58.9 Km², la población total del cantón según el Censo de Población y Vivienda realizada en el 2010 es 6861 habitantes. La población se encuentra distribuida en la cabecera cantonal de 4032 habitantes, en la cabecera parroquial Bella María 806 habitantes y en la zona rural se encuentran 2023 habitantes. La densidad poblacional del cantón es de 0.99 hab/ha (Gobierno Autónmo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

La principal actividad que desarrolla la población económicamente activa en el cantón Balsas es la agricultura (café con el 85,60% es el cultivo principal seguido del arroz, maní, caña de azúcar y el maíz), ganadería silvicultura y pesca con el 38,41%, así como la producción avícola, la media mensual de producción de pollos está por los 418300 unidades comercializadas en pie (Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

El cantón Marcabelí se encuentra ubicado en la parte sur de la provincia de El Oro, su cabecera cantonal “Marcabelí” se ubica en la zona central del territorio cantonal(Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Marcabelí (2014-2019), 2018).

Los límites del cantón Marcabelí son: Al norte con el cantón Piñas, delimitado por un ramal de la cordillera Tahuín y cantón Arenillas, al sur con la Provincia de Loja delimitado por el río Puyango, al este con el cantón Balsas, delimitado por el curso del

río Balsas, hasta la desembocadura de la quebrada la Esperanza, por la que se continúa hasta su origen, al oeste el cantón Lajas, teniendo de límites al cerro de El Oso, continúa por la cordillera y quebrada La Aldea, hasta desembocar en el río Puyango. (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Marcabelí 2014 - 2019, 2017).

Las altitudes en el cantón Marcabelí fluctúan desde los 320 ms.n.m. en la zona sur, hasta los 1280 ms.n.m. en la zona noroeste, la cabecera parroquial urbana Marcabelí está entre los 520 y 630 ms.n.m., la precipitación anual es de 1127,6 mm y la máxima se da en abril que es de 360 mm, su temperatura oscila de 20 a 25 °C, los pisos climáticos son Tropical Interandino, tiene una humedad relativa 85.5% media mensual, las principales quebradas que están distribuidas en el cantón son las siguientes: Q. Villa seca, Q. San Antonio, Q. Navajill, Q. La Esperanza, Q El caucho, Q. Corral, Q. Los tigres, Q la Aldea, Q. Agua negra, Q. El arenal y Q. Amparo. La mayoría de estas quebradas desembocan en el río Marcabelí, y son de vital importancia para los regadíos de los cultivos de la zona, la quebrada el Cuacho es la principal fuente de agua para su posterior tratamiento y abastecer al centro poblado de Marcabelí (Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

La superficie del cantón Marcabelí es de 148.36 Km², la población total del cantón es de 5450 personas de las cuales 2781 son hombres lo que corresponde a un 51.02% y 2669 son mujeres correspondiendo al 48.97%, la población cantonal se encuentra distribuida en el área urbana con un numero de 3682 habitantes y en el área rural con un número de 1768 habitantes, lo que indica que el mayor asentamiento poblacional se encuentra en la parroquia urbana Marcabelí, específicamente concentrada en el área urbana. La densidad poblacional es de 36.73 hab/Km² (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Marcabelí 2014 - 2019, 2017).

La principal actividad que desarrolla la población económicamente activa en el cantón Marcabelí es la agricultura (el café es el cultivo principal seguido del maíz, maní, caña de azúcar, etc.), ganadería silvicultura y pesca con el 43,43%, de la agricultura (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Marcabelí 2014 - 2019, 2017).

La mayor parte del territorio del cantón está destinado a la ganadería, según el CNA 2000, nos refiere a que en el cantón existen 366 vacas de ordeño, la actividad porcina está principalmente ubicada en el sitio El Rosal al norte del cantón, la actividad avícola concentra 7200 aves en producción (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Marcabelí 2014 - 2019, 2017).

El cantón Piñas se encuentra ubicado en la zona alta de la provincia de El Oro, en las estribaciones occidentales de la cordillera de Los Andes (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

Los límites del cantón Piñas son: Al norte con los cantones de Atahualpa y Santa Rosa, al sur con la provincia de Loja, al este por los cantones Portovelo y Zaruma y por el oeste con los cantones Balsas, Marcabelí y Arenillas (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

El cantón Piñas se encuentra ubicado en las estribaciones occidentales de la Cordillera de Los Andes, en la hoya de Zaruma, a una altura de 1014 ms.n.m., la precipitación promedio anual es de 2116 mm, registrándose en febrero como el mes más lluvioso con 543,5 mm y el mes más seco es agosto con 0,5 mm, la temperatura promedio es de 21,7 °C, la temperatura máxima se registra en noviembre con 32 °C y la temperatura mínima corresponde al mes de agosto con 16.3 °C (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015), las principales cuencas

hidrográficas del cantón son: río Piñas y río Moromoro, los mismo que alimentan la red hídrica de la cuenca alta del Puyango-Tumbes; río Naranjos, tributario de la red hídrica del río Arenillas que sirve como fuente de abastecimiento en el embalse Tahuín; además como límites geográficos intercantonales e interprovinciales tiene a los ríos Calera, Amarillo y Pindo, posee algunos manantiales, entre los principales se puede anotar a: La Arada, Piñas Grande, Loma Larga, Las Chontas, Matalanga, Granada, las 7 vertientes principales que abastecen de líquido vital al cantón son: las quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, que proveen de 50 l/s aproximadamente; las quebradas El Palmal, La Chiral y Las Chontas, las cuales proporciona más de 10 l/s (Gobierno Autónmo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

El cantón Piñas tiene una superficie total de 571 Km², la población del cantón es de 25988 habitantes según el censo de Población y Vivienda 2010, se encuentra distribuida en el área urbana con un número de 17401 habitantes y en el área rural 8587 habitantes, lo que indica que el mayor asentamiento poblacional tiene se encuentra en la parroquia urbana Piñas, específicamente concentrada en el área urbana, su densidad poblacional es de 42.13 hab/Km² (Gobierno Autónmo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

Según el último Censo de Población y Vivienda llevado a cabo en el año del 2010 la principal actividad que desarrolla en mayor parte la población económicamente activa en el cantón Piñas es la agricultura (el café es el cultivo predeterminante), ganadería silvicultura y pesca con el 26,65%, según el Censo Nacional Agropecuario del 2000 la producción del ganado mayor es el vacuno que tiene un porcentaje del 93%, y en cuanto que la producción de ganado menor consta con el 90% el ganado porcino, mientras que para el sector avícola el 85,72% de aves son criadas en granjas,

económicamente el rubro más importante son los pollos de engorde (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

La hidrogeología de cada uno de los cantones estudiados se presenta a continuación:

Litológicamente, Balsas se encuentra dividido en tres zonas al Oeste, que corresponde a la Unidad Victoria, al Noroeste la unidad el Tigre metagrauwacas, pizarras y al Sur la unidad Piedras, Anfibolitas Basáltica (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019, 2012).

Litológicamente, Marcabelí se encuentra dividido en dos zonas la Unidad La Victoria que afloran únicamente en el extremo Norte de la cordillera, y la Unidad El Tigre que son paisajes quebrados, con fuerte pendiente (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Marcabelí 2014 - 2019, 2017).

La formación geológica dominante del cantón Piñas corresponde al granito gnéisico per-alumínico del periodo triásico, esta formación se localiza de forma transversal en el centro del cantón, en las parroquias de La Bocana, Saracay, Moromoro, Piñas y San Roque. También presenta las lavas andesíticas, a riolíticas, piroclastos del período Oligoceno, que están ubicados en la parte noroeste del cantón, específicamente en la parroquia Piñas y parte de Moromoro (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019, 2015).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

Evaluar la presencia de residuos antibióticos de uso animal y humano en los principales ríos de captación y descarga de los cantones Piñas, Balsas y Marcabelí.

2.2 Objetivo Específicos.

- Cuantificar las características fisicoquímicas y microbiológicas de las muestras de agua de los ríos del Distrito 07D04.
- Detectar la presencia de los principales antibióticos de uso humano y animal en las muestras de los ríos del Distrito 07D04.
- Cuantificar los antibióticos en las muestras de los ríos más importantes de la zona del distrito 07D04.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Parámetros de Calidad de Agua:

La valoración de la calidad de agua es la evaluación de su naturaleza química, física y biológica en relación con la calidad natural, los efectos humanos y posibles usos. La evaluación de esta varía en las diferentes regiones, debido a que muchas de las veces no presentan las mismas características, para lo cual se han desarrollado estudios e indicadores propios para determinar la calidad del agua. (Torres , Hernan , & Patiño, 2009, pág. 79).

3.1.1 pH:

Medida que indica la cantidad de iones hidrógeno presentes en el agua, indicado como el logaritmo negativo de la concentración de este. Cuando la concentración de iones hidrógeno es desfavorable en aguas residuales provocan daño a las microbiota acuática. Los valores de pH de 6,5 a 8,5 son los adecuados para procesos de tratamiento y desarrollo de la vida biológica (Romero Rojas, 2004).

3.1.2 Potencial Oxido Reducción:

El potencial de oxidación reducción mide la cantidad relativa de materiales oxidados y reducidos, o la capacidad de ganar o perder electrones (Romero Rojas, 2004).

3.1.3 Oxígeno Disuelto:

Cantidad de oxígeno gaseoso que se encuentra disuelto en el agua siendo de baja solubilidad. El OD es requerido para el desarrollo de la vida acuática aerobia. La concentración de saturación está en función de temperatura, presión atmosférica y la salinidad del agua (Romero Rojas, 2004).

3.1.4 Turbiedad:

Medida óptica del material suspendido en el agua. Las aguas residuales crudas en general son turbias, por lo cual es un factor importante para el control de calidad de aguas (Romero Rojas, 2004).

3.1.5 Temperatura:

La temperatura es un parámetro primordial ya que puede afectar y alterar la vida acuática, cambia los niveles de saturación de oxígeno disuelto, la velocidad de las reacciones químicas y la actividad microbiana. Las aguas residuales son más cálidas que las aguas de suministro y en aguas de enfriamiento la polución térmica es significativa (Romero Rojas, 2004).

3.1.6 Microbiología del Agua:

Los organismos que se encuentran en el agua se clasifican de acuerdo con sus características celulares. Los microorganismos desarrollan actividades primordiales en el ambiente como captar energía del sol e intervenir en los ciclos del carbono, del oxígeno, del nitrógeno y demás elementos indispensables para la vida. La existencia de estos se puede evidenciar en los residuos humanos y animales; y su patogenicidad es utilizado como indicadores de contaminación en función del tratamiento biológico del agua (Romero Rojas, 2004).

3.1.6.1 Coliformes:

Las coliformes son un grupo numeroso de bacterias, los excrementos humanos pueden contener hasta 2×10^{11} organismos personas/día. Se utilizan como indicadores de contaminación, por su presencia en el agua. Existen estudios que mencionan que las coliformes se multiplican en aguas de clima

cálido, para lo cual tendría que investigarse para establecer normas bacteriológicas de descarga de aguas residuales (Romero Rojas, 2004).

3.2 Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes se los puede definir como cualquier sustancia química sintética o natural o cualquier microorganismo que no es detectado comúnmente en el medio ambiente, pero que puede entrar en él y causar efectos adversos ecológicos y/o para la salud humana (USGS, 2016), ocasionalmente son controlados o monitoreados y se necesitan más investigaciones para evaluar sus impactos sobre la salud humana y el medio ambiente (WWAP (Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas), 2017). La característica principal que tienen estos contaminantes es causar efectos dañinos, debido a que los compuestos liberados en el medio ambiente pueden experimentar cambios estructurales por una variedad de procesos bióticos o no bióticos incluyendo fotólisis, hidrólisis y biotransformación, convirtiéndose en tóxicos inclusive más recalcitrantes y bioacumulables que los contaminantes precursores. (Varo, 2016). Estos contaminantes se encuentran distribuidos en los medios acuáticos y en el ambiente debido a que su clasificación y componentes son extensas, como se puede ver en la Tabla 1.

La parte teórica de este estudio se enfoca al análisis primordialmente de los siguientes contaminantes emergentes (antibióticos):

- Tetraciclinas
- Betalactámicos
- Sulfamidas

La principal clasificación que tienen los antibióticos es la que se basa en la acción del antibiótico sobre la bacteria, que pueden ser:

- a) Bacteriostáticos: Las que inhiben la multiplicación bacteriana. Dentro de estas se encuentran: Tetraciclinas, Eritromicina, Sulfonamida, Novobiocina y Cloranfenicol.
- b) Bactericidas: Tienen una acción terapéutica, es decir irreversible, destruyendo a la bacteria. Dentro de esta se encuentran: Betalactámicos (Penicilinas y Cefalosporinas), Aminoglucósidos, Rifampicina, Quinolonas, Monobactámicos y Polimixinas (Cordi, Andr, Reyes, & Cordi, 1998).

Tabla 1. Clases de contaminantes emergentes

Clases de Compuestos	Ejemplos
Fármacos	Paracetamol, carbamazepina, diazepam, iopamidol
Esteroides y Hormonas	Estradiol, estrona, estriol, dietilstilbestrol
Drogas de Abuso	Anfetamina, cocaína, tetrahidrocanabinol
Fragancias	Musks policíclicas, nitromusks
Filtros Solares	3-Benzofenona, ácido octildimetil-p-aminobenzoico (ODPABA)
Antioxidantes y Conservantes	Fenoles y Parabenos
Insecticidas y repelentes	Piretroides, N, N-dietiltoluamida (DEET)
Biocidas	Triclosan, Clorfenol
Detergentes Tensioactivos	Alquilfenoles y derivados
Retardantes de llama	Éteres difenilo polibromados (PBDEs), ésteres organofosforados
Plastificantes	Ftalatos, bisfenolA, ácido perfluorooctanoico (PFOA), perfluorooctanosulfonato (PFOS)
Aditivos y Agentes industriales	Agentes quelantes, sulfonatos aromáticos, benzotriazoles, 1,4-dioxano
Aditivos de la Gasolina	Éteres de dialquilo, metil t-butil éter (MTBE)
Subproductos de desinfección	Bromaldehídos, cianoformaldehído, bromato

Fuente: (Becerril Bravo, 2012).

3.3 Antibióticos

Los antibióticos son sustancias producidas por distintos tipos de especies de microorganismos, como bacterias, hongos o actinomicetos, inclusive ciertas especies de insectos y plantas; los cuales logran suprimir el desarrollo de otros microorganismos e incluso pueden llegar a eliminarlos. (Sumano & Ocampo, 2006).

Existen algunos microorganismos con actividad antimicótica, es decir mecanismos de defensa, algo similar en organismos marinos que tiene moléculas con este tipo de actividad. (Marquez , Galeano, & Martinez , 2004, pág. 35) . Los estudios recientes afirman que existen diferentes especies de actinomicetos en ecosistemas marinos los cuales poseen la capacidad de producir nuevos compuestos bioactivos, estos actinomicetos se han encontrado en lo más profundo del océano, específicamente en lodos marinos, especies productoras de antibióticos de tipo alcaloide. (Ixtapan Tejero, y otros, 2018, pág. 28). Estas sustancias antibióticas también son encontradas en mayor cantidad en los distintos organismos vegetales.

Los antibióticos tienen su origen en las conocidas observaciones del británico Alexander Fleming, en 1928 donde el hongo *Penicillium notatum* tenía un efecto inhibidor, sobre un cultivo de estafilococos. Con el descubrimiento de la penicilina comienza la era de los antibióticos que permitiría combatir todas las enfermedades originadas por las bacterias. (Raviña Rubira, 2008).

Los betalactámicos, actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglucano (Marín & Gudíol, 2003). Son compuestos de acción bactericida lenta, independientemente de la concentración plasmática, que presentan una escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. (García Sánchez ,

Fresnadillo Martinez, Arce, & Garcia Sanchez , 1999, pág. 290). También son utilizados para el tratamiento de infecciones bacterianas presentes en los animales de granjas, es decir utilizados para la medicina veterinaria.

Las tetraciclinas penetran en la célula bacteriana por mecanismos de difusión pasiva a través de los canales hidrófilos (porinas) y mediante procesos de transporte activo (Mendoza, 2019). Es un grupo de antibiótico bacteriostáticos de amplio espectro, naturales y semisintéticos, además de ser activos contra gérmenes resistentes a los antibióticos betalactámicos. El mecanismo bacteriano implicado en la resistencia a las tetraciclinas puede ser mediante plásmidos, disminución de la permeabilidad bacteriana para este antibiótico, enzimas bacterianas que metabolizan al antibiótico. (Mendoza, 2019).

La principal vía de contaminación del agua; es causada por la excreción humana, la eliminación de productos caducos y el uso indiscriminado de las actividades ganaderas, avícolas y porcinas, estos son dispuestos de manera inadecuada en los ríos y drenajes de las ciudades, problemática provocada por el mismo ser humano, debido a que se ha encargado de modificar el medio ambiente, de tal manera, se vuelve más sencillo para que los microorganismos se desplacen en las diferentes poblaciones vulnerables; por su naturaleza la comunidad microbiana sufre cambios metabólicos adquiriendo mecanismos de inmunidad a los antibióticos.

3.4 Comportamiento ambiental de los antibióticos

El extenso uso que tiene los antibióticos en la medicina humana como veterinaria ha generado una constante y continua disposición en los diferentes ecosistemas, provocando daños a la flora y fauna, al hablar de antibióticos se refiere a un gran número de fármacos con diferentes mecanismos de acción, lo cual dificulta la determinación de estos en el ambiente, la identificación de antibióticos de manera

adecuada es relacionándolos por su grupo (B-lactámicos, quinolonas, sulfas, etc.), aunque al utilizar este método de detección específico para alguna parte de la molécula (ejemplo el anillo beta-lactámico), se corre el riesgo de no ser encontrada debido a los procesos de purificación que tiene el agua (Mompelat, Bot, & Thomas, 2009).

Sin embargo la identificación de antibióticos tiene cierto grado de complejidad, ya que la problemática radica en la distribución amplia y el uso inadecuado de los antibióticos tanto en actividades humanas como de animales que ha aumentado de manera considerable en los ecosistemas, lo cual ha dificultado la determinación de antibióticos con efectos tóxicos o nocivos, en especial para determinar si son algunos los que están provocando el daño o conjuntamente actúan todos causando daños al mismo tiempo (Moreno, y otros, 2013).

Los antibióticos al ser eliminados directamente a efluentes hospitalarios o a las redes municipales sin metabolizar o solo parcialmente metabolizados, repercuten en los distintos ecosistemas acuáticos y los sedimentos. Aquellos que sean más hidrosolubles tendrán mayor movilidad en este medio y los que poseen elevado carácter lipofílico serán absorbidos por barros y sedimentos (Heuer et al., 2002), la biodegradación de estos compuestos es un factor clave para evitar acumulación en el medio ambiente y generar posteriormente efectos adversos por su elevada y no esperada concentración, o bien efectos sinérgicos con otros compuestos (Hirsch, Ternes, Haberer, & Kratz, 1999), por lo que la aparición de los productos farmacéuticos y antibióticos se da principalmente en el “Ciclo Agua” donde convergen con las diferentes condiciones climáticas, actividades antropogénicas y otros tóxicos, dándose la contaminación del agua, alterando la calidad de esta, podemos observar en la figura 1, el ingreso de estos contaminantes a la microbiota acuático es por medio del vertido de aguas residuales o servidas, de los distintas actividades que se utiliza el

agua, siendo las urbanas, hospitalarias, industriales y provenientes de agricultura, ganadería, avicultura, etc.

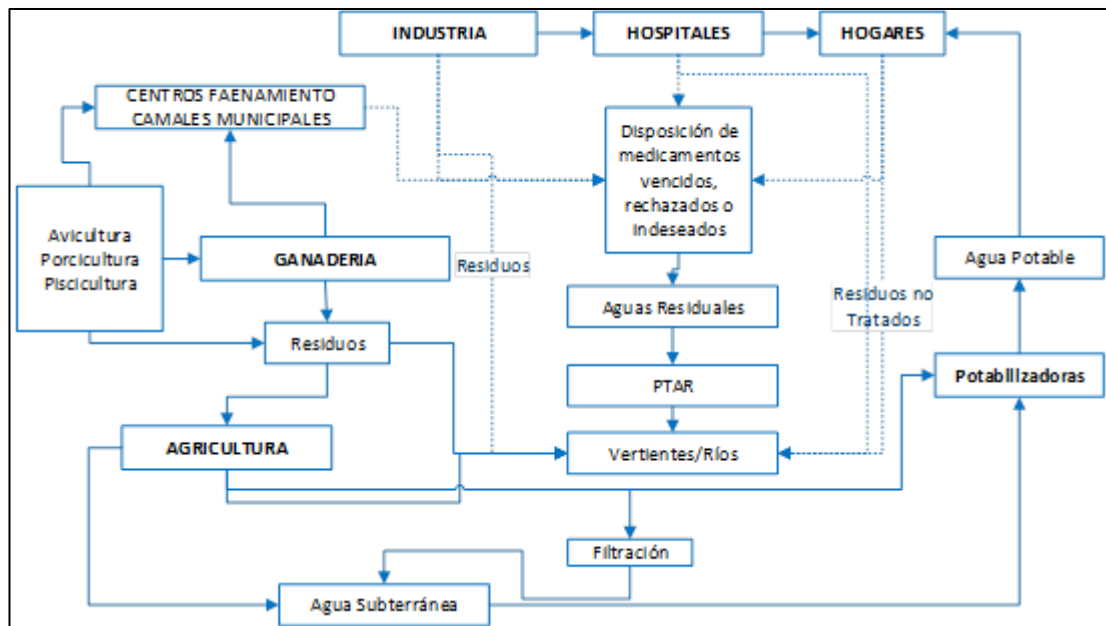


Figura 2. Ciclo Hidrológico de los antibióticos.
Elaborado por: Silva A. (Visio 2018).

La bioactividad que tienen los antibióticos betalactámicos, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos (Suárez & Gudíol, 2009), un ejemplo claro de esto es la amoxicilina que es una penicilina semisintética de amplio espectro susceptible a la penicilinasas, teniendo una absorción oral; además de presentar una estabilidad en el ácido gástrico y puede ser ingerida sin tomar en cuenta los alimentos, su propagación es de manera inmediata en casi todos los tejidos y líquidos del cuerpo, exceptuando el cerebro y el líquido cefalorraquídeo, salvo cuando las meninges están inflamadas (Zamora & Campos, 2015).

Las tetraciclinas, por su parte, tienen una bioactividad inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas, se han convertido de uso habitual debido a que actúan frente a una gran variedad de microorganismos, además han sido ocupadas en algunas áreas de la agricultura (Vicente & Pérez, 2010), se debe considerar que las combinaciones de

antibióticos generan un efecto sinérgico que provoca que se dé efectos tóxicos en concentraciones menores a las necesarias para provocar toxicidad cuando se presentan aisladamente, por lo que en ambientes naturales, los organismos están por tanto expuestos a mezclas de diferentes antibióticos de distinto origen (González-Pleiter et al., 2013).

Los antibióticos son fármacos ampliamente utilizados, existe evidencia de la presencia de residuos de antibióticos en el ambiente y su implicación en los mecanismos de defensa propios de los organismos vivos, el entorno natural podría actuar como reservorio y fuente de resistencia (Jiménez, 2011). Los antibióticos que produjeron las bacterias del suelo sirvieron como modelo para el diseño de nuevas estructuras químicas con actividades semejantes, hoy en día, alrededor de la mitad de todos los antibióticos de uso clínico se derivan de los actinomicetos, la producción de compuestos naturales con acción antimicrobiana por parte de los microorganismos del suelo abre una amplia y prometedora vía de investigación para la adquisición de antibióticos con los que tratar las enfermedades infecciosas causadas por agentes etiológicos resistentes. (Muñoz , 2017).

El número de fármacos a muestrear sigue siendo grande y para poder minimizar la lista se necesita más información, como, por ejemplo, el grado y velocidad de degradación en las plantas de tratamientos de las aguas residuales y aguas superficiales, la velocidad de degradación de muchos productos farmacéuticos en el medio es desconocida y cuando se encuentra, ha sido estimada bajo condiciones de laboratorio (Zuccato et al., 2004), los reportes de toxicidad aguda que los microorganismos tienen al entrar en contacto con los medicamentos siguen siendo desconocidos, por lo que es importante considerar metodologías generales que abarque los volúmenes de venta, metabolismo, toxicidad, concentraciones, biodegradabilidad

y la capacidad de absorción que tiene sobre los lodos determinando la ecotoxicidad de los medicamentos (Andreozzi, Caprio, Marotta, & Radovnikovic, 2003).

3.5 Prueba Rápida de Tira para residuos de antibióticos beta-lactama, tetraciclina y sulfonamida.

El kit fabricado por la empresa PerkinElmer que lleva el nombre de BIOO Scientific “AuroFlow™ BTS Combo Strip”, el mismo que por medio de un ensayo rápido de flujo lateral cualitativo permite detectar los residuos antibióticos como los betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas (Scientific, 2018), estas tiras de análisis son pruebas rápidas que detectan 14 antibióticos betalactámicos, 3 tetraciclinas y 11 sulfonamidas principales en la leche en o por debajo de los LMR de la UE y CODEX. Los kits combinados permiten la detección simultánea de diferentes clases de residuos de antibióticos e interpretación de los mismos por medio del manual que incluye este (Scientific, 2018). Estas pruebas de vanguardia eliminan la necesidad de utilizar cualquier máquina de calefacción, por lo que los informes de validación están disponibles y muestran la eficacia de las pruebas tanto a temperatura ambiente como en frío (Scientific, 2018).

3.6 Curvas de Calibración

El método más utilizado en química analítica es la construcción de una curva de calibración que ayude a encontrar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, principalmente en disoluciones, la relación proporcional entre la concentración y una determinada señal analítica (propiedad), permitirá encontrar la posible concentración en una muestra dada mediante la medida de esa señal, la misma que se representa en la curva de calibración, a través de la relación concentración-señal (Instituto Superior de FP Sanitaria Claudio Galeno, n.d.), por lo que el proceso de análisis de una muestra se lleva a cabo mediante un método analítico descritos en

procedimientos de trabajos estandarizados, éste aborda todas las operaciones implicadas hasta la consecución del resultado final: preparación de reactivos, materiales, equipos, estándares, preparación de una curva de calibración y controles de calidad analíticos (AGQ Labs Chile S.A., 2017).

La mayor parte de los métodos analíticos son relativos, es decir, el contenido del analito en la muestra se obtiene a través de un patrón o estándar de referencia certificado; a partir de éste es posible preparar una disolución de concentración exactamente conocida como solución madre. Luego, utilizando la solución madre, se prepara un conjunto de soluciones a distinta concentración para la obtención de una curva de calibración. (AGQ Labs Chile S.A., 2017) . De esta manera se puede definir un intervalo de trabajo en el cual, los resultados a informar tienen una precisión y exactitud conocida que ha sido documentada en la validación de cada método, para que se dé la etapa de calibración analítica, es necesario un modelo, que consiste en encontrar la recta de calibrado (expresión matemática) que mejor ajuste a una serie de “n” puntos experimentales, donde cada punto está definido por una variable “x” (variable independiente, generalmente concentración del analito de interés) y una variable “y” (variable dependiente, generalmente respuesta instrumental), la recta de calibrado se encuentra definida por una ordenada de origen (b) y una pendiente (m), es decir la siguiente ecuación $y = mx + b$, considerando que su r^2 tiene que ser valores mayores a 0,9 o que se aproximen a 1, serán admitidos como legítimos (AGQ Labs Chile S.A., 2017).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales:

4.1.1 Materiales para etapa de Muestreo:

Los distintos materiales utilizados en la etapa de muestreo son elementos esenciales para la recolectar las muestras de agua, y se especifican en la tabla 2.

Tabla 2 Materiales ocupados en la etapa de muestreo.

Material	Característica
Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test	Micropipeta 2 µm, reactivo y bandas detección
Kit	Capacidad de 250 ml
Frasco Ámbar	Reseñables
Fundas Plásticas Ziploc	150 ml
Frascos de Muestra	Capacidad de 14 l
Hielera Cooler	Caucho / Quirúrgicos
Guantes	
Pilas de Gel Refrigerante	
Hielo Seco	
Cinta Masking Tape	
Marcador	

Elaborado por: Silva A. 2019.

4.1.2 Materiales para etapa de análisis de laboratorio.

Los materiales que se detallan en la Tabla 3 fueron ocupados para llevar a cabo los diferentes análisis microbiológicos; mismos que fueron proporcionados por la universidad.

Tabla 3 Materiales ocupados en la etapa de análisis de laboratorio

Material	Característica
Vasos de Precipitación	Capacidad de 500 ml
Frasco Boeco	Capacidad de 500 ml
Pipetas Pasteur	
Asas Bacteriológicas	
Cinta Indicadora de Esterilidad	
Cajas Petri	
Medio Estándar PCA	
Agar MacConkey	
Agua Destilada	

Elaborado por: Silva A. 2019.

4.1.3 Equipos Utilizados

Los equipos ocupados para elaborar los análisis de calidad de agua correspondientes se detallan en la Tabla 4, con su respectivo registro y procedencia, para avalar los análisis mencionados.

Tabla 4 Equipos de laboratorio utilizados

Nombre	Marca	Modelo
Turbidímetro	Orbeco Hellige	TB200 Portable Turbidímetro
pH – metro	Metter Toledo	FiveGoTM
Medidor de OD	Metter Toledo	S4 Seven2Go
AutoClave		
Incubadora		

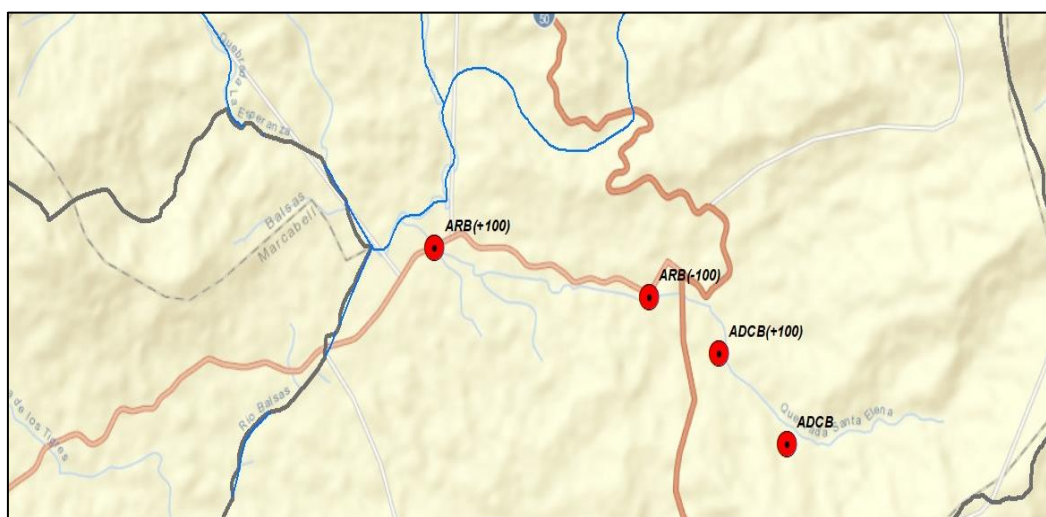
Elaborado por: Silva A. 2019.

4.2 Metodología:

4.2.1 Metodología de Campo

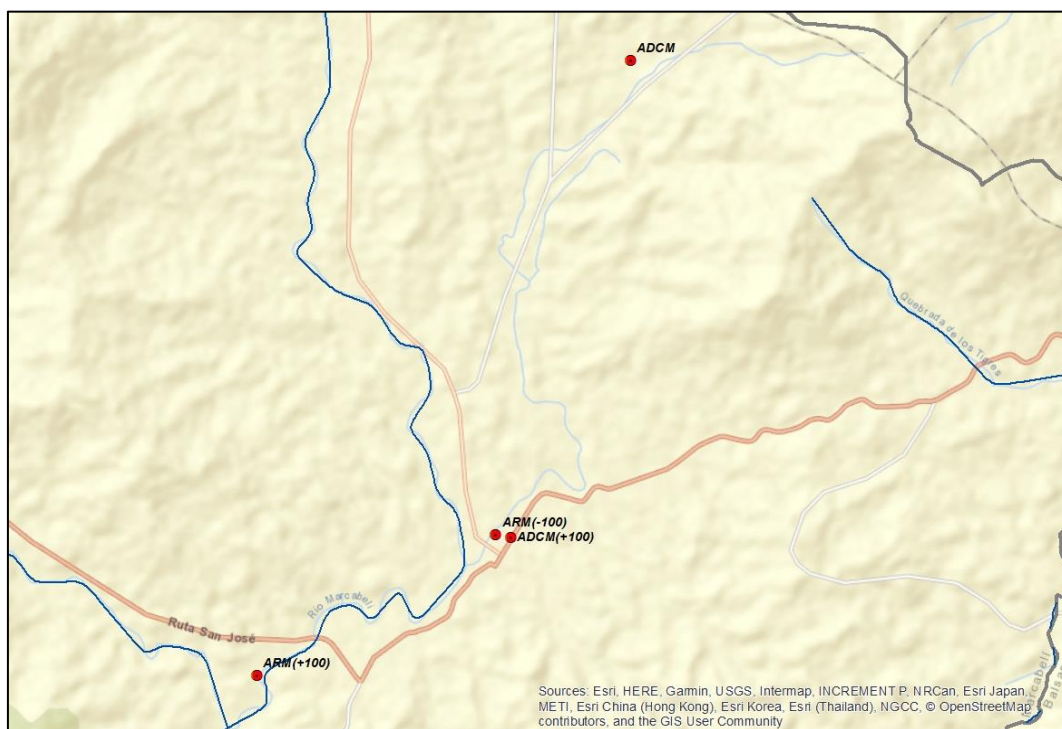
4.2.1.1 Localización y Descripción del Área de Estudio.

En el cantón Balsas, el agua de la Quebrada Santa Elena es utilizada para el consumo humano, sin embargo, por otro lado, en el río Balsas se vierten las aguas servidas de la ciudad como se ve en la Figura 3.



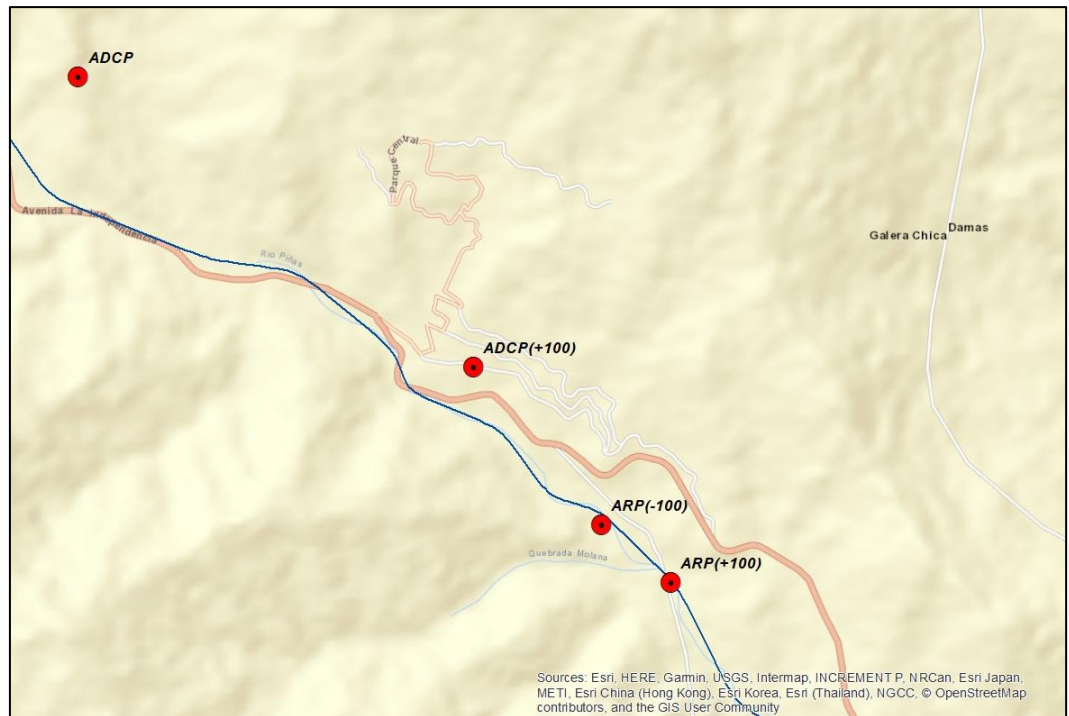
*Figura 3. Localización del proyecto en el cantón Balsas.
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1).*

En el cantón Marcabelí, el agua proveniente del sector El Porvenir y de la Quebrada El Caucho es potabilizada y distribuida a la ciudad, mientras que en el río Marcabelí son vertidas las aguas residuales de la ciudad como se indica en la Fig. 4.



*Figura 4. Localización del Proyecto en el cantón Marcabelí.
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1).*

Para el cantón Piñas, el agua de 7 vertientes (quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, El Palmal, La Chiral y las Chontas), son potabilizadas en la planta de Piñas Grande para luego ser distribuidas en la ciudad. En el río Piñas se vierten las aguas servidas de la ciudad, esta cruza parte de la cabecera cantonal como se ve en la Figura 5.











*Figura 5. Localización del Proyecto en el cantón Piñas.
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1).*

4.2.1.2 Selección del Área de Estudio:


Para recopilar los datos de manera exacta fue necesario utilizar el Sistema de Posicionamiento Global (GPS) por sus siglas en inglés, este equipo permitió ubicar los diferentes puntos de las zonas de captación y descarga, las plantas de potabilización de agua de los tres cantones Balsas Piñas y Marcabelí, ya que al momento que se establece conexión con los distintos satélites determina con alta precisión la información de campo para ser visualizada en los mapas. De esta manera se establecieron los 12 puntos que se indican en la Tabla 5:




Tabla 5. S. Coordenadas de ubicación para los puntos de muestreo.

N ^o	Punto	Sector o Sitio, (Vertiente)	Coordenadas UTM X	Y	Altura (msnm)	Imagen del Sitio
CANTÓN BALSAS						
1	ADCB	Planta Potabilizadora (agua Quebrada Santa Elena)	631404,202	9583129,377	776	
2	ADB (+100)	Centro de la Ciudad (Quebrada Santa Elena)	630806,648	9583746,300	689	
3	ARB (-100)	Agua Residual 100 m. antes del camal, (Quebrada Santa Elena)	630190,557	9584134,367	650	
4	ARB (+100)	Agua Residual 100 m. después del camal, (Quebrada Santa Elena)	628307,179	9584477,210	598	
CANTÓN MARCABELÍ						
1	ADCM	Sitio Porvenir (Riachuelo Porvenir y Quebrada El Caucho)	621871,284	9585725,020	620	

2	ADM (+100)	Centro de la Ciudad (Riachuelo Porvenir y Quebrada El Caucho)	620829,488	9581618,451	520	
3	ARM (-100)	Agua Residual 100 m. antes del camal, (cauce quebrada El Caucho)	620701,212	9581638,665	510	
4	ARM (+100)	Agua Residual 100 m. después del camal, (Río Marcabelí)	618626,412	9580424,966	505	

CANTÓN PIÑAS

1	ADCP	Planta Potabilizadora Agua Piñas Grande, (Quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, El Palmal, La Chiral y las Chontas)	644387,329 6	9594570,256	1231	
---	------	--	-----------------	-------------	------	---

2	ADP (+100)	Mercado Central (Quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, El Palmal, La Chiral y las Chontas)	646460,758 7	9593047,865	1018	
3	ARP (-100)	Agua Residual 100 m. antes del camal, (Río Piñas)	647129,305 4	9592224,251	944	
4	ARP (+100)	Agua Residual 100 m. después del camal, (Río Piñas)	647493,191 3	9591918,075	918	

Elaborado por: Silva A. 2019

4.2.1.3 Determinación de la Muestra:

Para el trabajo de campo fue necesario establecer parámetros, es decir que se siguió una secuencia en la recolección de las muestras, definido en la NTE INEN 2169: Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras (Anexo 1). En cada uno de los puntos de muestreo se tomó 500 ml de agua para elaborar los análisis, con la ayuda de equipos como el pH-metro (FiveGo™, Metter Toledo), medidor de oxígeno disuelto (S4 Seven2Go, Metter Toledo), turbidímetro (TB200 Turbidimeter, Orbeco), y un kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test Kit de marca BIOO Scientific estos equipos se observan en el (Anexo 2), cada equipo contó con su respectivo

manual técnico para el adecuado uso, las muestras fueron previamente etiquetadas en botellas ámbar y frascos herméticos siendo refrigeradas y transportadas a la ciudad de Quito al laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana sede Sur, en un cooler hermético manteniendo la temperatura adecuada.

4.2.1.4 Detección de Antibióticos:

Para realizar la detección de antibióticos de cada una de las muestras se utilizó el kit AuroFlow TM BTS Combo Strip, siguiendo el procedimiento que señala el manual que incluye este, como se indica en el (Anexo 3).

Interpretación visual: cuando la señal en la línea T es más intensa que la señal en la línea C, la muestra de agua es negativa para la presencia de residuos. Una señal en la línea T que es igual o menos intensa que la señal en la línea C indica una muestra de agua con presencia de antibióticos (Scientific, 2018). La interpretación de los resultados se lo realiza como se indica en la Figura 6.

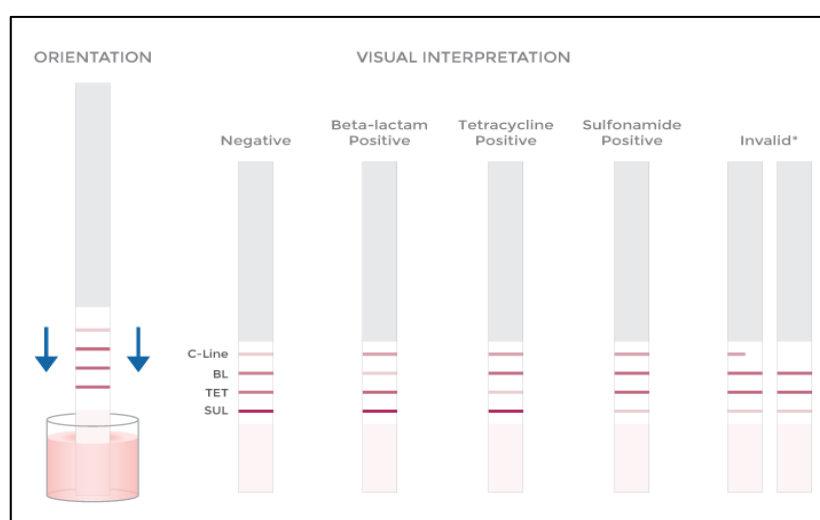


Figura 6. Interpretación visual de resultados, según el tipo de antibiótico y de su presencia o ausencia que se establezca.

Fuente: Copyright 2019 Bioo Scientific Corporation.

4.4 Trabajo de laboratorio

Las muestras se trasladaron al laboratorio para ser guardadas y refrigeradas de manera correcta durante una semana, en este lapso, se necesitaron dos días para que estas puedan estar a la temperatura de 4°C, para su posterior uso. Se tuvieron muestras adicionales para tener un respaldo, en caso de que el método pudiera fallar durante los análisis. Estas fueron reguladas a temperatura ambiente y se elaboró el medio de cultivo de manera inmediata para evitar cualquier crecimiento microbiano, para lo que se utilizó 500 gramos, de los agares PCA y MacConkey que su composición se indica en el (Anexo 4), ambos medios universales para el cultivo y valoración de microorganismos, específicamente para la cuantificación de UFC (unidades formadoras de colonia), debido a que el cultivo de microorganismos permitirá ver si existe algún tipo de influencia de las UFC con los antibióticos encontrados en la zona de estudio, por lo que, fue necesario preparar 500 ml de cada uno de los agares, siguiendo las instrucciones para la preparación de cada uno de estos, es importante indicar que todos los elementos fueron previamente esterilizados en el autoclave.

4.4.1 Preparación del Agar

Los agares que se hallan de manera comercial y los que dispone la universidad son medios de cultivo que vienen en presentación de liofilizados (deshidratados); para la preparación del medio de cultivo, se inició pesando los agares a ocupar y luego se disolvieron en agua destilada, siguiendo las indicaciones que se encuentran en las etiquetas del producto, disueltos los agares, pasaron a ser esterilizados junto con los materiales que se ocuparon en el cultivo. Los agares necesitan estar en reposo para que tengan una temperatura ambiente de unos 50-60°C, para que no se solidifiquen los medios, ya que tuvieron que ser vertidos a las cajas petri para la siembra, con la finalidad de observar los resultados de cada una de ellas, es importante indicar que

previo a la esterilización los agares fueron preparados en los Frascos graduados “BOECO GERMANY” como se detalla en el (Anexo 5).

4.4.2 Preparación de las muestras para siembra

Una vez esterilizados los materiales: pipetas, cajas petri y tubos de ensayo; se tomaron las cajas petri, donde se depositó el líquido, en un ambiente totalmente aséptico (es decir en cada una de las cajas se colocaron cerca al mechero de Bunsen, en un radio de 10 a 15 cm, esto según el grado, color y la intensidad que se encontró la flama). Las muestras de agua fueron sacadas de refrigeración y puestas cerca del área de cultivo, para ser aclimatadas a temperatura ambiente. Se procedió a tomar 1 ml de cada uno de los frascos ámbar y recipientes, para la siembra correspondiente, dispersando el agar en las respectivas cajas. Se consideraron diluciones que permitieron minimizar la concentración de microorganismos como se indica en la Figura 7, se tomó 9 ml de solución salina y 1 ml del agua muestreada realizando diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} clasificándolas por lugar, tipo de muestra y agar usado, como fueron Agar MacConkey y Agar PCA (García, Domenech, López, Oliver, & Ramírez, 2010). Ya obtenida las diluciones se ocupó el método de “caja pobre” (técnica de siembra), colocando 1 ml de las diluciones en las distintas cajas petri etiquetadas para tener un mejor control, el mililitro se extendió por toda la caja, para luego depositar el agar en las cajas con una temperatura máxima de 35°C. Fueron ocupadas 28 cajas petri, distribuidas de la siguiente manera: 14 cajas para MacConkey y 14 cajas para PCA, estas últimas cajas se utilizaron para las muestras de agua de captación y potabilización. Ya concluida la siembra fueron puestas cada una de las

cajas en la incubadora, con la temperatura de 37°C, para que se pueda dar un crecimiento microbiano en un periodo de 48 horas.

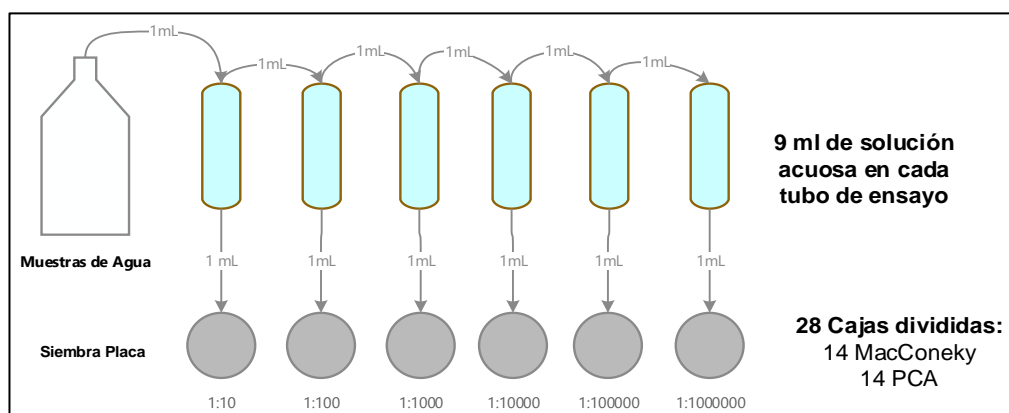


Figura 7. Procedimiento para la siembra y cultivo de microorganismos. Elaborado por: Silva A. (Visio 2018).

Para el conteo de las UFC, para no tener errores se utilizó una aplicación llamada MediXGraph (Alcance CFU) la misma que se encuentra actualmente disponible de forma libre únicamente para los teléfonos Apple es decir el sistema operativo iOS, esta aplicación permite calcular con precisión el número de colonias en una placa de agar como se muestra en el (Anexo 6) que se encuentran distribuidas por meses. Con esta app se puede hacer de forma automática en aproximadamente en 3 segundos (Martinez, 2016).

4.4.3 Preparación de las Curvas de Calibración

En la preparación de las curvas de calibración se tomó en cuenta una muestra “Blanco”, que es primordial para realizar los análisis y cálculo de las concentraciones.

4.4.3.1 Preparación de la muestra “Blanco”

La muestra “blanco” permitirá verificar los distintos resultados, por lo que se hizo necesario muestras puras como para β -lactámicos, Tetraciclinas y Sulfamidas, utilizando las siguientes pastillas, una de Amoxipen-T (Amoxicilina), una de Bactrim Forte (Sulfametoxazol y trimetoprima) y una de

Tetraciclina Clorhidrato Grenfar (Tetraciclina) respectivamente. Para determinar la muestra en “blanco” se ocupó un gramo de muestra de las diferentes pastillas, las mismas que fueron machacadas con un mortero y establecer 6 muestras de cada una de las pastillas, es decir 1 blanco y 5 diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} como se detalla en la Figura 8. Cada una de las diluciones fue valorada por las bandas de detección del kit AuroFlow™ para comprobar la existencia y densidad de cada muestra de los antibióticos.

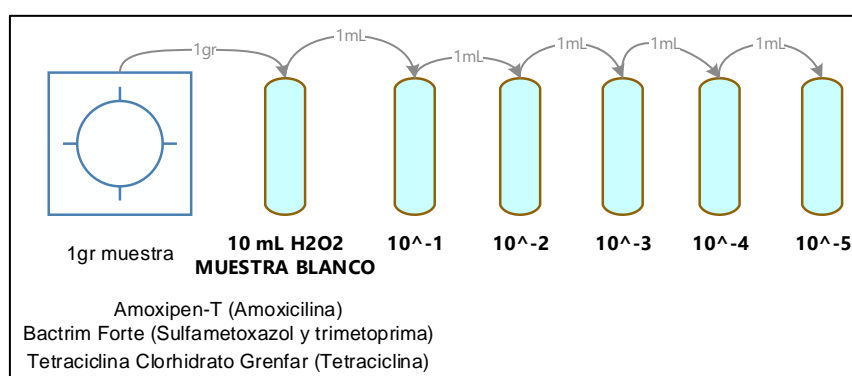


Figura 8 Procedimiento para la obtención de la muestra "Blanco" para cada uno de los antibióticos (betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas)
Elaborado por: Silva A. (Visio 2018).

4.4.3.2 Análisis por medio del Software:

Para el análisis se utilizó el programa informático R Studio (RStudio, 2018), ya que por medio de imágenes ráster se puede definir la cantidad de antibiótico que se encontraron en las bandas, siendo ocupadas de color: roja, verde y azul o también definidas en inglés como RGB (Red-Green-Blue), también se verificó que las imágenes de la medición del kit sean exactas, es decir que todas tienen que estar a la misma distancia, e igual exposición de luz, ya que el mínimo error presente podría alterar el cálculo de las tiras al ser evaluadas en el programa informático; una vez capturadas las 18 imágenes, que conciernen al blanco como se detalla en el (Anexo 7), fueron recortadas y analizadas posteriormente a través de los distintos códigos que contiene el programa R

Studio como se detalla en el (Anexo 8), dejando constatar el valor de las bandas, para ser examinadas con las otras 48 bandas de todas las zonas de estudio.

De tal manera y por medio de la curva de calibración (en función de la concentración y definido por un intervalo e interpolado en la recta de calibración, permitió determinar el valor del compuesto evaluado), así como los puntos de la recta hallada concuerden adecuadamente con el modelo matemático de la ecuación, estableciendo valores de la ordenada de origen, coeficiente de determinación (R^2) y pendiente (AGQ Labs Chile S.A, 2017).

4.4.3.2.1 Elaboración de Mapas Ilustrativos:

La elaboración de mapas ilustrativos se realizó a través del software destinado a los sistemas de información geográfica (SIG), ArcGIS; con las herramientas que nos permiten generar isolíneas para una variable determinada, realizando la interpolación, mediante la opción de Spatial Analyst Tools (herramientas de análisis especial), apartado de interpolación (IDW), generando un archivo en formato ráster que nos muestra diferenciado por colores las rectas o curvas que describen la intersección de una superficie real o hipotética (GEASIG, n.d.).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Resultados de Parámetros Fisicoquímicos y presencia de Antibióticos.

Los resultados de este estudio revelaron la presencia de antibióticos como betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas; de igual manera se detallan los valores obtenidos para las características fisicoquímicos, determinados en el área de estudio por mes, como se indican en las Tablas de la 6 a la 9.

Tabla 6. Datos promedios del mes de abril, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.

Fecha	Puntos	Río/Quebrada/Captación	pH		mV		Oxígeno Disuelto[mg/l]		Turbidez [NTU]		Temperatura [°C]		Antibióticos		
			Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	B	S	T
29-abr-18	ADCP	Captación Piñas	7,61	0,08	-27,33	2,89	7,18	0,01	2,27	0,19	21,17	3,32	1	1	1
	ADCP₍₊₁₀₀₎	Captación Piñas	7,70	0,02	-30,00	2,65	6,74	0,01	0,26	0,23	22,80	1,91	1	1	1
	ARP₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	7,61	0,09	-34,00	1,00	6,72	0,01	13,37	1,63	21,97	0,31	1	0	1
	ARP₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	7,52	0,08	-30,00	1,00	5,60	0,09	14,27	0,23	23,83	1,61	1	1	1
30-abr-18	ADCB	Quebrada Santa Elena	7,69	0,02	-31,33	2,89	7,10	0,01	1,03	0,14	22,53	2,17	1	1	0
	ADCB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,66	0,05	-35,67	2,89	7,95	0,04	0,09	0,14	22,67	0,29	1	1	1
	ARB₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,42	0,20	-24,00	0,00	5,83	0,02	17,03	0,70	24,70	0,56	1	1	0
	ARB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,42	0,01	-18,33	0,58	6,10	0,05	16,67	1,52	27,27	0,21	1	1	1
	ADCM	Quebrada Caucho	7,55	0,02	-31,33	1,53	7,46	0,01	2,18	1,64	26,73	0,06	1	1	1
	ADCM₍₊₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,59	0,15	-17,00	0,00	7,31	0,07	0,00	0,00	27,00	0,78	1	1	0
	ARM₍₋₁₀₀₎	Quebrada Caucho	6,72	0,02	-24,67	0,58	7,56	0,01	4,82	0,59	27,30	0,10	1	1	1
	ARM₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	7,54	0,01	-25,67	0,58	4,98	0,04	3,20	0,38	30,13	0,31	1	1	1

Elaborado por: Silva, A. 2019

Tabla 7. Datos promedios del mes de mayo, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos, donde tetraciclinas no fueron encontradas en el cantón Piñas. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.

Fecha	Puntos	Río/Quebrada/Captación	pH		mV		Oxígeno Disuelto[mg/l]		Turbidez [NTU]		Temperatura [°C]		Antibióticos		
			Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	B	S	T
20-may-18	ADCP	Captación Piñas	7,79	0,21	-23,00	0,00	8,90	0,15	1,69	0,32	20,81	0,52	1	1	0
	ADCP₍₊₁₀₀₎	Captación Piñas	7,74	0,03	-28,00	1,00	8,25	0,01	0,61	0,07	21,53	0,59	1	1	0
	ARP₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	7,87	0,01	-42,00	0,58	7,29	0,05	28,62	0,85	22,93	0,58	1	1	0
	ARP₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	7,94	0,03	-25,67	0,00	7,33	0,03	28,94	0,87	22,43	0,40	1	1	0
19-may-18	ADCB	Quebrada Santa Elena	7,61	0,05	-25,67	0,58	8,19	0,01	2,32	0,11	21,93	0,71	1	1	1
	ADCB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,81	0,08	-32,67	1,53	7,48	0,04	3,52	0,22	23,97	0,93	1	1	1
	ARB₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,73	0,00	-28,00	0,00	6,92	0,01	84,75	2,54	24,23	0,67	1	1	1
	ARB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,67	0,00	-27,67	2,08	6,58	0,03	77,13	1,09	27,50	0,89	1	1	0
	ADCM	Quebrada Caucho	7,67	0,04	-33,67	6,35	7,58	0,05	1,75	0,10	25,47	0,65	1	1	0
	ADCM₍₊₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,77	0,18	-21,67	1,15	7,89	0,06	0,61	0,27	26,03	0,47	1	1	1
	ARM₍₋₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,42	0,00	-12,00	1,73	6,53	0,01	14,81	0,08	25,51	0,10	1	1	0
	ARM₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	7,52	0,02	-16,00	0,00	6,39	0,07	7,58	0,18	26,50	0,17	1	1	1

Elaborado por: Silva, A. 2019

Tabla 8. Datos promedios del mes de junio, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.

Fec ha	Puntos	Río/Quebrada/Captación	pH		mV		Oxígeno Disuelto[mg/l]		Turbidez [NTU]		Temperatura [°C]		Antibióticos		
			Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	Promedio	Desv.Est and	B	S	T
15-jun-18	ADCP	Captación Piñas	7,75	0,01	-32,00	2,65	8,96	0,21	0,55	0,19	18,13	1,62	1	1	1
	ADCP₍₊₁₀₀₎	Captación Piñas	7,92	0,03	-41,67	1,53	9,40	0,03	0,00	0,00	19,27	0,15	1	1	1
	ARP₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	7,91	0,00	-37,67	0,58	9,47	0,02	7,30	0,83	18,87	0,40	1	0	1
	ARP₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	7,91	0,01	-39,67	0,58	9,10	0,08	15,15	1,78	20,73	0,15	1	1	0
14-jun-18	ADCB	Quebrada Santa Elena	7,66	0,09	-27,00	0,00	8,53	0,23	0,39	0,07	22,73	1,21	1	1	0
	ADCB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,85	0,04	-33,67	0,58	8,13	0,02	0,10	0,02	25,27	0,72	1	1	1
	ARB₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,57	0,01	-24,33	3,21	8,32	0,05	8,58	0,48	23,77	0,35	1	1	0
	ARB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,60	0,09	-18,67	0,58	8,54	0,04	5,97	1,81	23,37	0,46	1	1	1
	ADCM	Quebrada Caucho	7,71	0,05	-13,67	7,09	9,17	0,09	14,27	2,99	21,77	0,12	1	1	1
	ADCM₍₊₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,56	0,03	-32,33	5,51	8,75	0,19	0,00	0,00	24,40	0,00	1	1	1
	ARM₍₋₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,49	0,00	-19,33	7,51	8,56	0,01	1,56	0,02	23,87	0,40	1	1	1
	ARM₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	7,56	0,14	-13,00	0,00	8,36	0,13	4,85	0,60	25,63	0,12	1	1	0

Elaborado por: Silva, A. 2019

Tabla 9. Datos promedios del mes de junio, se observan exclusivamente las muestras que indicaron ser positivas a la presencia de antibióticos. La presencia y ausencia de antibióticos esta dado por 1 presencia y 0 ausencia. Los valores negativos [mV] corresponden al Potencial Oxido Reducción.

Fec ha	Puntos	Río/Quebrada/Captación	pH		mV		Oxígeno Disuelto[mg/l]		Turbidez [NTU]		Temperatura [°C]		Antibióticos		
			Promedio	Desv.Est	Promedio	Desv.Est	Promedio	Desv.Est	Promedio	Desv.Est	Promedio	Desv.Est	B	S	T
3- ago- 18	ADCP	Captación Piñas	7,36	0,24	-20,33	0,58	8,23	0,06	0,81	0,40	21,63	0,85	1	1	0
	ADCP₍₊₁₀₀₎	Captación Piñas	7,74	0,03	-26,00	3,00	7,95	0,18	0,00	0,00	21,57	0,64	1	1	0
	ARP₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	7,76	0,00	-31,00	0,00	4,85	0,01	17,93	1,78	27,53	2,66	1	1	1
	ARP₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	7,57	0,18	-28,00	1,00	5,85	0,02	13,61	1,03	21,77	0,21	1	1	0
4- ago- 18	ADCB	Quebrada Santa Elena	7,59	0,24	-28,33	0,58	8,25	0,07	0,79	0,12	20,27	0,32	1	1	1
	ADCB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,60	0,04	-10,67	4,04	7,80	0,04	0,24	0,26	21,87	0,31	1	1	1
	ARB₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,36	0,04	-13,67	1,53	4,67	0,00	4,97	0,23	23,03	1,71	1	1	1
	ARB₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	7,62	0,01	-20,00	1,00	5,32	0,17	1,68	0,13	24,20	0,69	1	1	1
	ADCM	Quebrada Caucho	7,35	0,01	-7,00	0,00	7,47	0,01	0,80	0,13	22,57	0,15	1	1	1
	ADCM₍₊₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,30	0,01	-1,67	0,58	7,31	0,06	0,00	0,00	29,83	0,93	1	1	1
	ARM₍₋₁₀₀₎	Quebrada Caucho	7,35	0,02	-12,33	2,08	7,47	0,03	2,07	0,35	28,73	0,76	1	1	0
	ARM₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	7,33	0,00	-4,67	1,15	5,75	0,07	9,40	0,13	27,57	1,10	1	1	0

Elaborado por: Silva, A. 2019

5.1.1 Relaciones Parámetros de Calidad vs Tiempo

5.1.1.1 pH vs. Tiempo

El pH medido en la zona de estudio se encuentra dentro de un rango que va desde 7,94 a 7,05. Dentro de dicho rango las tetraciclinas y sulfamidas se mantienen estables en el agua y activas biológicamente (Montes de Campo, 2015). (Cuñat & Ruiz, 2016). Los valores altos encontrados en el área de estudio se detallan en la Figura 9:

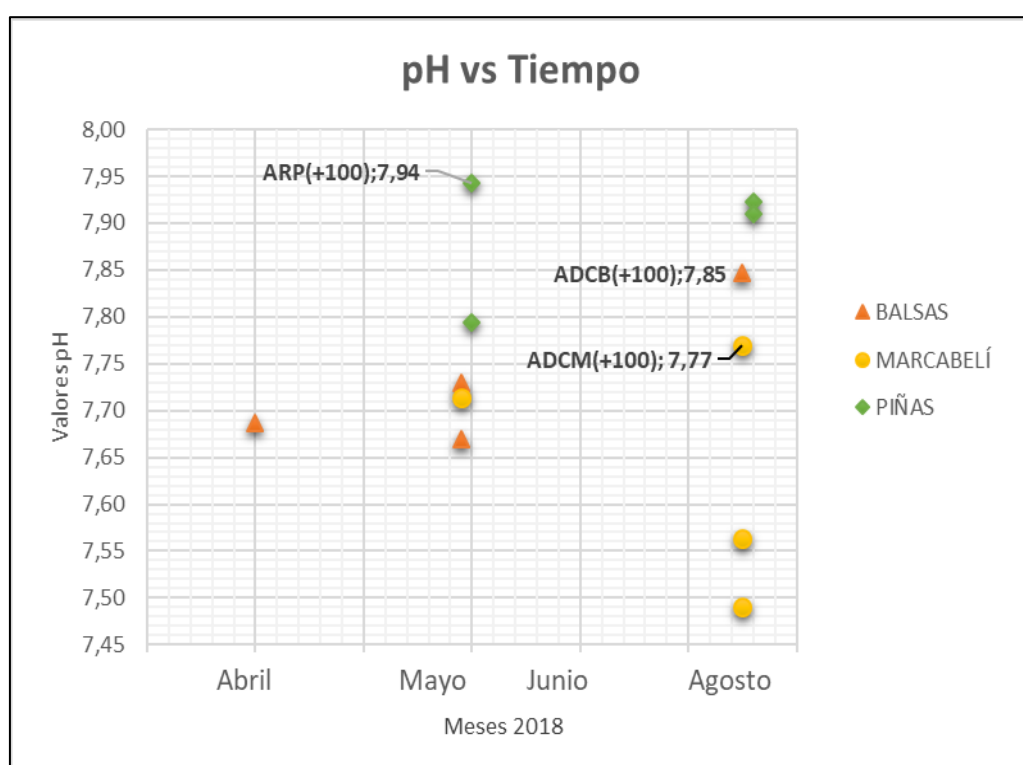


Figura 9. Gráfica correspondiente a la relación pH y el tiempo durante los meses de estudio. Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.1.1.2 Temperatura vs. Tiempo

Los efectos adversos de los antibióticos dependen de las condiciones ambientales (pH y temperatura) del tipo de antibiótico, la concentración y el tiempo de exposición (Cuñat & Ruiz, 2016). Habiendo muestreado una vez al mes durante 4 meses, se determinaron datos de temperatura en los puntos de las distintas zonas, ríos y quebradas de los tres cantones Balsas, Marcabelí y

Piñas, se determinó un promedio de todas las temperaturas medidas, los valores variaron por el tiempo del año, altitud, relieve y por las horas que se tomó las muestras. Por este motivo los meses de abril y mayo se presentaron como los más calurosos en los cantones Balsas y Marcabelí con valores desde los 20°C a 30°C, siendo el día más caluroso el 30 de abril del 2018. Mientras que para el Cantón Piñas el mes de agosto fue el más caluroso del año, con niveles de 21°C a 27°C, dándose como el 3 de agosto del 2018 como el día más caluroso. Esto se puede observar en la Figura 10:

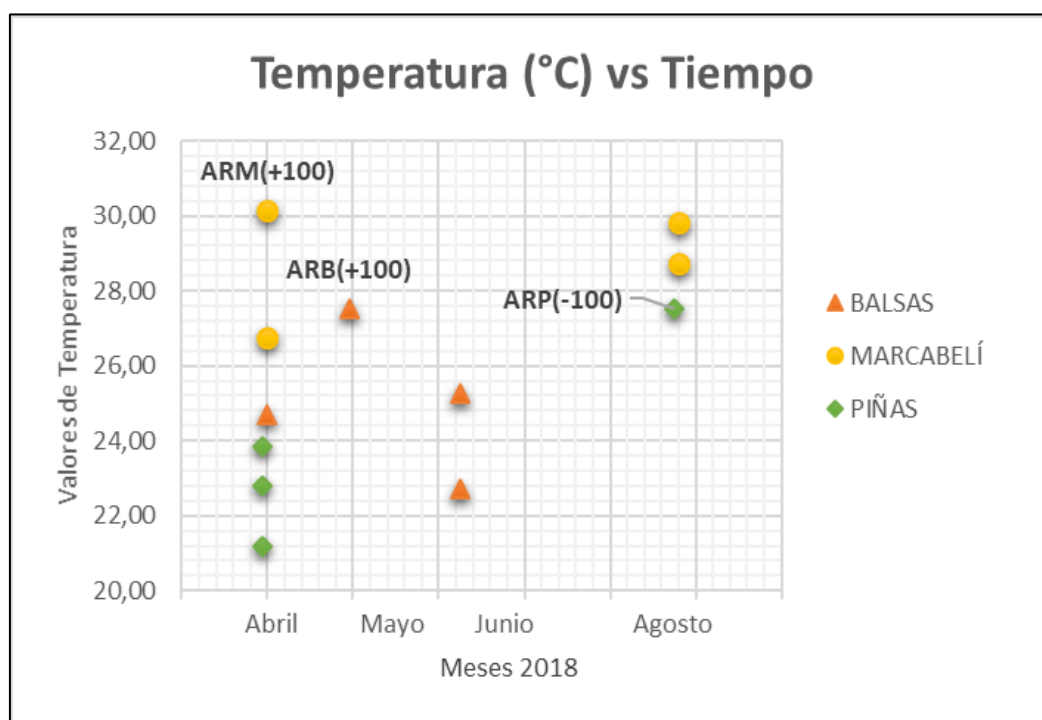


Figura 10. Gráfica que proporciona la relación de la temperatura y el tiempo durante los meses de estudio.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.1.1.3 Potencial Oxido Reducción vs. Tiempo.

En la Figura 11 se puede evidenciar los valores altos encontrados de conductividad durante los meses de estudio realizado en los tres cantones. Se establece que el potencial oxido reducción no es un parámetro que se relacione con el estudio de antibióticos, ya que son mediciones utilizadas para determinar

la calidad y desinfección del agua potable en relación para el agua destinada al consumo humano (Jimenez, Rodriguez , & Acosta , 2009, pág. 41)

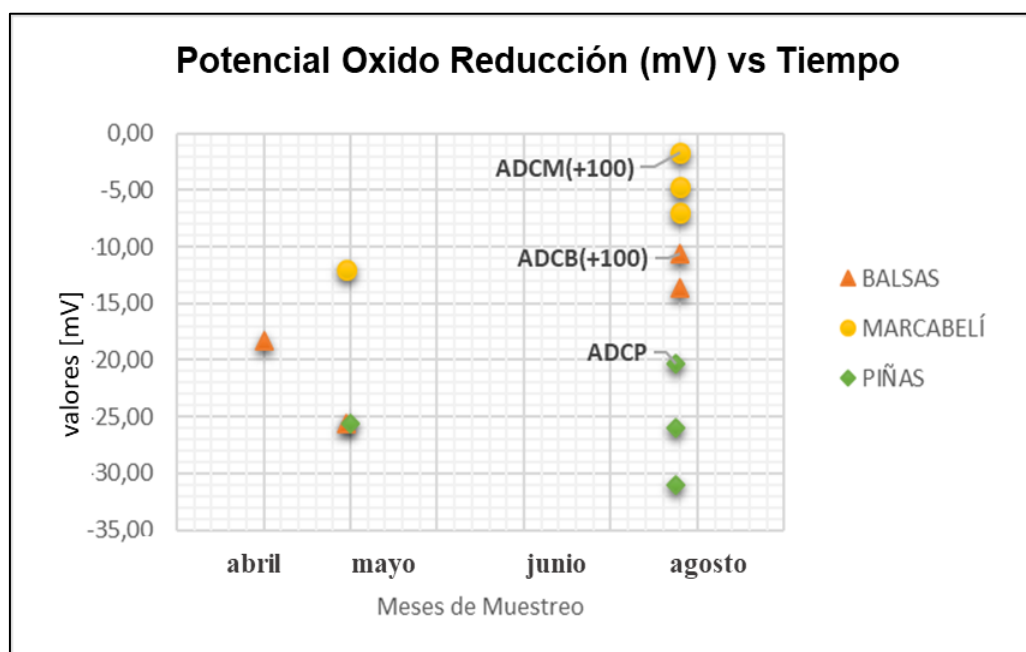


Figura 11. Gráfica que proporciona la relación de los valores de potencial oxido reducción altos y el tiempo durante los meses de estudio.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.1.1.4 Oxígeno Disuelto (mg/l) vs. Tiempo.

Los datos de oxígeno disuelto se evidencian en la Figura 12 donde se encuentran los valores más altos obtenidos en los meses de estudio. Los valores de oxígeno disuelto fueron de 4,68 a 9,47 [mg/l] que se encuentran dentro de niveles óptimos para el desarrollo de la vida acuática. Además de que los valores de oxígeno disuelto sirven para evaluar los efectos ante posibles potenciales agentes contaminantes, pero no para los antibióticos que se encuentran dentro de los contaminantes emergentes (Rivera, Encina, Muñoz-Pedrerros, & Mejias, 2004).

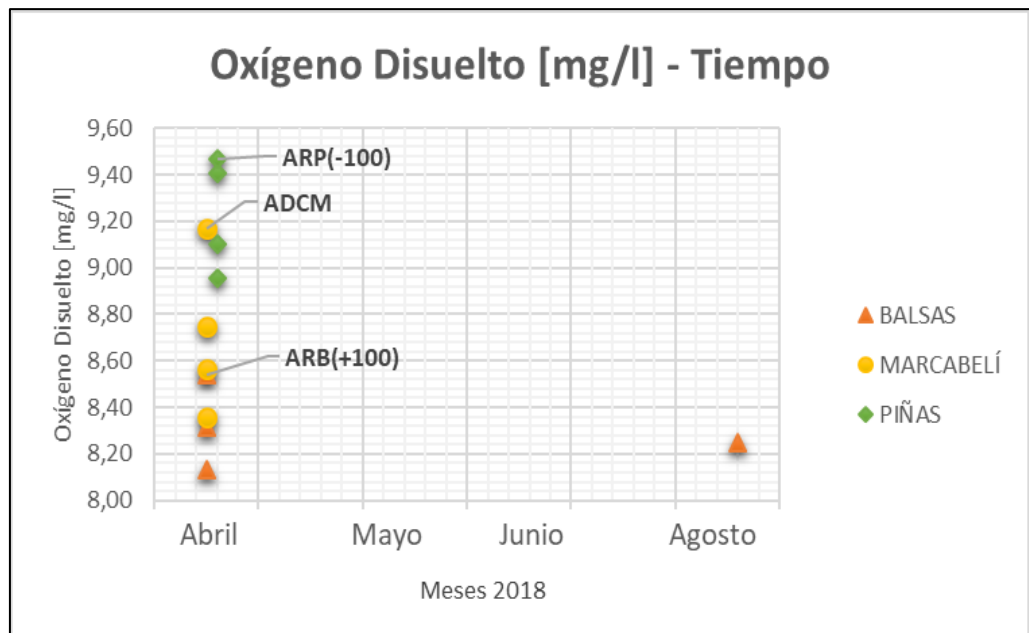


Figura 12. Gráfica que proporciona la relación de los valores altos de oxígeno disuelto y el tiempo durante los meses de estudio.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.1.1.5 Relación Turbidez (NTU) – Tiempo

En la Figura 13 se puede evidenciar los valores altos encontrados de turbidez durante los meses de estudio realizado en los tres cantones. Se establece que los niveles de turbidez pueden proteger a los microorganismos de los efectos de desinfección, estimular la proliferación de bacterias y aumentar la demanda de cloro (Marcó, Azario, Metzler, & García, 2004). Los valores encontrados en el área de estudio fueron: 0.09 a 84,75 [NTU], son concentraciones que se encuentran dentro del límite permisible: 100 [NTU], según la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua, del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente., Anexo 1 pp. 295, (2015)

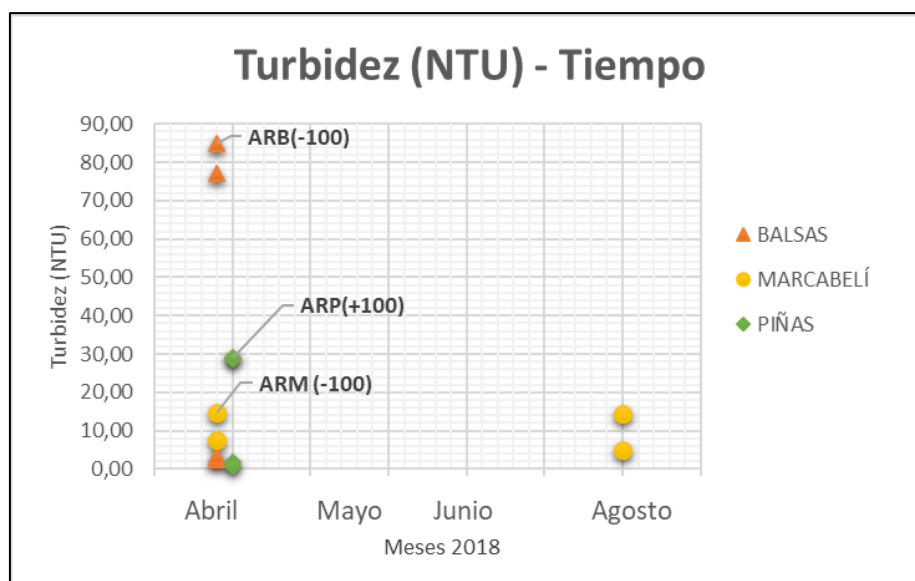


Figura 13. Gráfica que proporciona la relación de los valores altos de turbidez y el tiempo durante los meses de estudio.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.2 Resultados Análisis Microbiológico

Una vez aplicado los métodos de siembra y cultivo para el estudio microbiano del agua potable y residual de los tres cantones, se detallan por meses a continuación los resultados obtenidos de UFC en las Tablas de la 10 a la 12:

Tabla 10 Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de mayo.

Unidades Formadoras de Colonia					
20 de mayo		UFC			
Puntos	Captación/Quebrada/Río	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	TOTAL UFC/ml
Cantón Balsas					
ADCB	Captación Santa Elena	118	0	0	118
ADCB(+100)	Quebrada Santa Elena	27	0	0	27
ARB(-100)	Quebrada Santa Elena	0	0	31	15500
ARB(+100)	Quebrada Santa Elena	0	0	0	0
Cantón Marcabelí					
ADCM	Quebrada El Caucho	49	-	-	49
ADCM(+100)	Quebrada El Caucho	60	-	-	60
ARM(-100)	Quebrada El Caucho	0	0	0	0
ARM(+100)	Río Marcabelí	0	0	13	6500
Cantón Piñas					
19 de mayo					
ADCP	Captaciones Piñas	0	0	0	0
ADCP(+100)	Captaciones Piñas	78	-	-	78
ARP(-100)	Río Piñas	0	0	0	0
ARP(+100)	Río Piñas	0	0	0	0

Elaborado por: Silva A. 2019

Tabla 11. Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de junio.

Unidades Formadoras de Colonia									
15 de junio		UFC							
Puntos	Río/ Captación	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	TOTAL (UFC/ml)
Cantón Balsas									
ADCB	Captación Santa Elena	0	91	0	0	0	0	0	9,10x10 ³
ADCB ₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	0	45	0	0	0	0	0	4,50x10 ³
ARB ₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	0	0	0	0	0	80	0	1,33x10 ⁸
ARB ₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	0	0	0	0	0	78	79	1,45x10 ⁹
Cantón Marcabelí									
ADCM	Quebrada El Caucho	0	88	0	0	0	0	0	8,80x10 ³
ADCM ₍₊₁₀₀₎	Quebrada El Caucho	0	219	0	0	0	0	0	2,19x10 ⁴
ARM ₍₋₁₀₀₎	Quebrada El Caucho	0	0	0	0	0	103	20	5,05x10 ⁸
ARM ₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	0	0	0	0	0	0	71	1,18x10 ⁹
Cantón Piñas									
14 de junio									
ADCP	Captaciones Piñas	0	91	0	0	0	0	0	9,10x10 ³
ADCP ₍₊₁₀₀₎	Captaciones Piñas	0	45	0	0	0	0	0	4,50x10 ³
ARP ₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	0	0	0	0	0	80	0	1,33x10 ⁸
ARP ₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	0	0	0	0	0	78	79	1,45x10 ⁹

Elaborado por: Silva A. 2019

Tabla 12. Crecimiento y conteo de la unidad formadora de colonias, con sus respectivas diluciones del mes de agosto.

Unidades Formadoras de Colonia									
4 de agosto		UFC							
Puntos	Río/ Captación	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	TOTAL (UFC/ml)
Cantón Balsas									
ADCB	Captación Santa Elena	213	36	0	0	0	0	0	3,81x10 ³
ADCB ₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	20	45	0	0	0	0	0	4,52x10 ³
ARB ₍₋₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	0	44	0	0	0	0	0	4,40x10 ³
ARB ₍₊₁₀₀₎	Quebrada Santa Elena	0	0	0	0	0	183	0	3,05x10 ⁸
Cantón Marcabelí									
ADCM	Quebrada El Caucho	0	158	0	0	0	0	0	1,58x10 ⁴
ADCM ₍₊₁₀₀₎	Quebrada El Caucho	0	219	0	0	0	0	0	2,19x10 ⁴
ARM ₍₋₁₀₀₎	Quebrada El Caucho	0	0	0	0	0	72	0	1,20 x10 ⁸
ARM ₍₊₁₀₀₎	Río Marcabelí	0	0	0	0	0	28	0	4,67x10 ⁷
Cantón Piñas									
3 de agosto									
ADCP	Captaciones Piñas	207	7	0	0	0	0	0	9,07x10 ²
ADCP ₍₊₁₀₀₎	Captaciones Piñas	0	0	0	0	0	0	0	0
ARP ₍₋₁₀₀₎	Río Piñas	0	0	0	0	0	11	0	1,83x10 ⁷
ARP ₍₊₁₀₀₎	Río Piñas	0	0	0	0	0	31	0	5,17x10 ⁷

Elaborado por: Silva A. 2019.

Las concentraciones altas de UFC encontradas en el agua potable y residual de las tres ciudades, puede atribuirse a contaminación subterránea con aguas negras y por excrementos de animales, esto concuerda con el estudio realizado por Salazar, Vadia G.; Viteri, Ernesto C.; Suarez, (2018). La presencia de coliformes fecales no es reportada con frecuencia por las empresas municipales, quienes no exigen y verifican el cumplimiento de las normas existentes, con la finalidad de controlar la contaminación de los recursos hídricos (Calles, Estévez, Ochoa, Izurieta, & Campaña, 2019).

5.2.1 Relación de las unidades formadoras de colonias [UFC]

En los diferentes puntos donde se realizó los análisis de los cantones Balsas (quebrada Santa Elena), Marcabelí (quebrada Caucho y río Marcabelí) y Piñas (planta potabilización Piñas Grande proveniente de las 7 vertientes y río Piñas), se efectuó estudios microbiológicos que ayuden a determinar en qué punto se obtuvo mayor crecimiento de microorganismos, comparando todos los puntos según el tipo de agua.

La cantidad de microorganismos encontrados en las zonas captación [ADCB, ADCM y ADCP] de los distintos puntos muestreados, fue de 49 [UFC/ml] a $1,60 \times 10^4$ [UFC/ml], esto determina que las concentraciones no se encuentran dentro del límite permisible de 30 [UFC/ml], según la Tabla 1 de la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua, del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente., Anexo 1 pp. 295, (2015).

Los puntos ADCM y ADCP ambos tienen mayor presencia de microorganismos durante el mes de junio, siendo considerable en el punto ADCP; mientras que para el cantón Balsas, el punto ADCB muestra mayor crecimiento de microorganismos durante el mes de agosto, esto se detalla en la Figura 14.

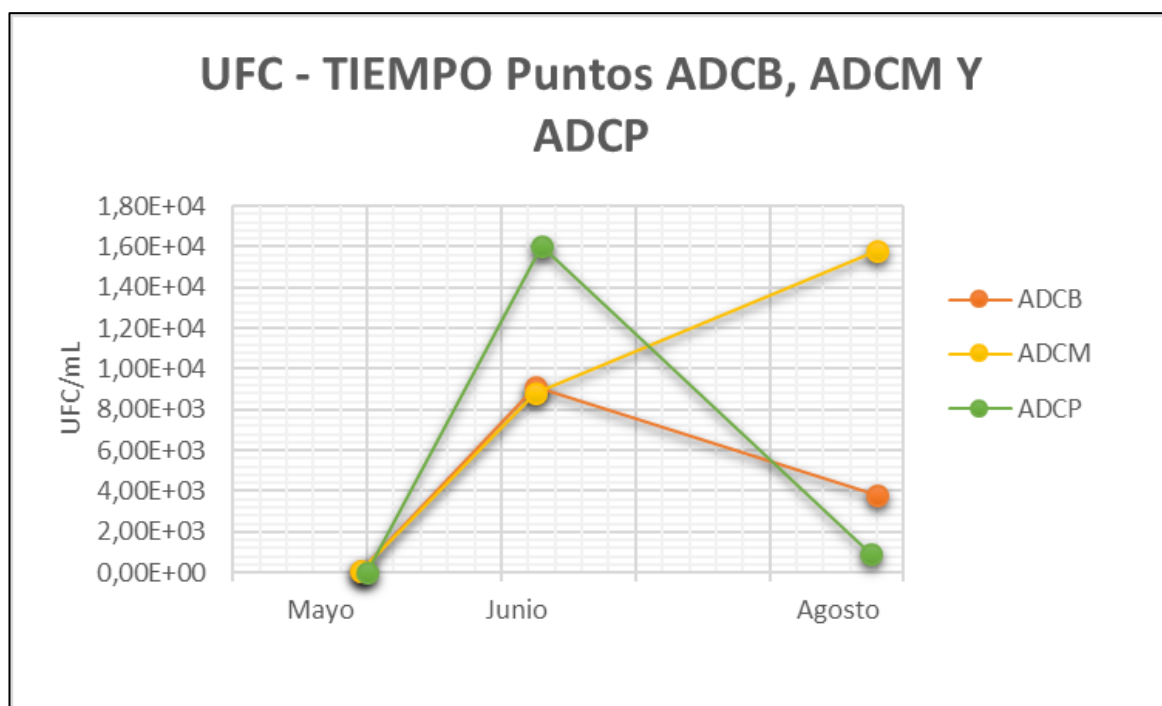


Figura 14. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en los puntos de captación de las distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La cantidad de microorganismos determinadas en el agua potable después de ser tratada en las distintas plantas de las ciudades [ADCB₍₊₁₀₀₎, ADCM₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎], fue de 27 [UFC/ml] a $2,19 \times 10^4$ [UFC/ml], estas concentraciones no se encuentran dentro del límite permisible de 30 [UFC/ml], según la Tabla 1 de la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua, del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente., Anexo 1 pp. 295, (2015).

Los puntos ADCB₍₊₁₀₀₎ y ADCM₍₊₁₀₀₎, en el mes de agosto ambos presentan mayor crecimiento, siendo superior en el punto ADCM₍₊₁₀₀₎. Mientras que para el cantón Piñas el punto ADCP₍₊₁₀₀₎ durante el mes de junio del 2018 se pudo evidenciar mayor presencia de microorganismos, como se detalla en la Figura 15.

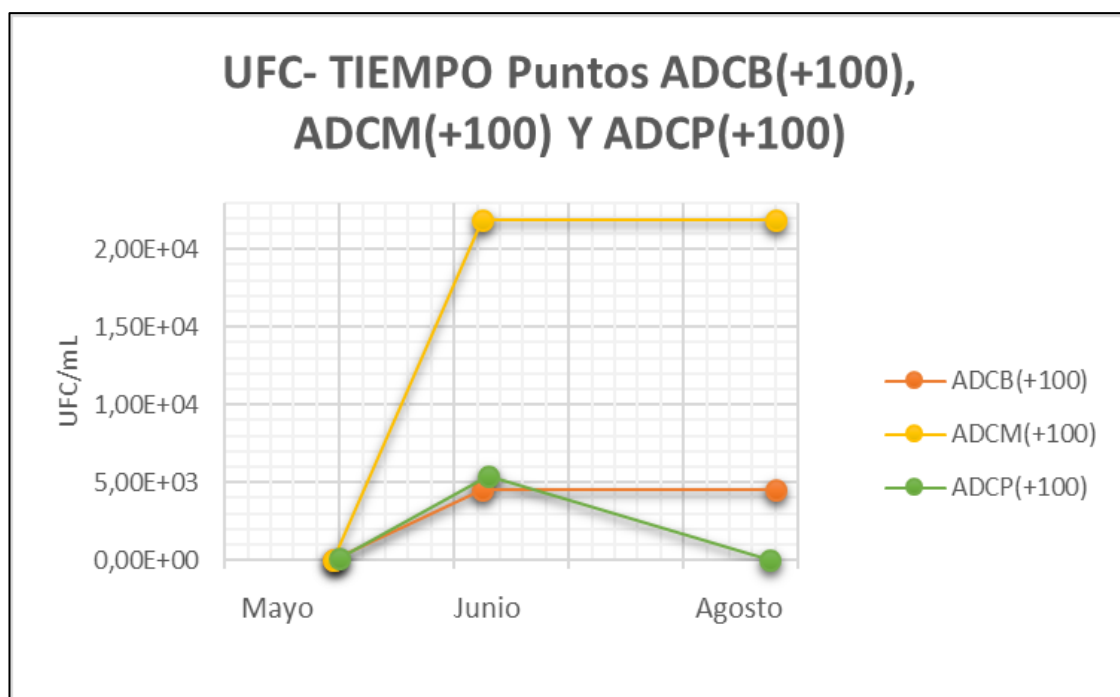


Figura 15. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La cantidad de microorganismos encontrados en las aguas residuales, a 100 metros antes de los distintos camales municipales [ARB₍₋₁₀₀₎, ARM₍₋₁₀₀₎ y ARP₍₋₁₀₀₎], fue de $4,40 \times 10^3$ [UFC/ml] a $9,62 \times 10^8$ [UFC/ml], estos cuerpos de agua al ser receptores no deben presentar concentraciones de microorganismos ya que una remoción previa es necesaria como se establece en la Tabla 12: Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua, del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente., Anexo 1 pp. 330, 2015. Los puntos con mayor presencia fueron ARB₍₋₁₀₀₎, ARM₍₋₁₀₀₎ y ARP₍₋₁₀₀₎ respectivamente, ambos coinciden en el mes de junio, siendo superior en el punto ARP₍₋₁₀₀₎, como se detalla en la Figura 16.

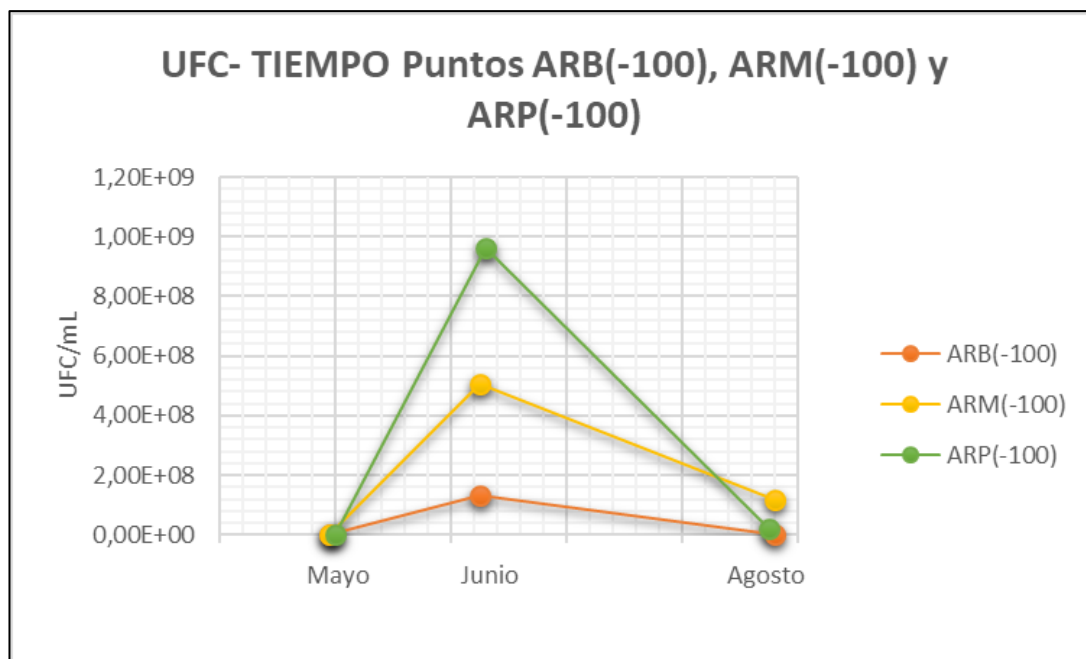


Figura 16. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La cantidad de microorganismos encontrados en las aguas residuales, a 100 metros después de los camales municipales [ARB₍₊₁₀₀₎, ARM₍₊₁₀₀₎ y ARP₍₊₁₀₀₎], fue de $4,67 \times 10^7$ [UFC/ml] a $1,45 \times 10^9$ [UFC/ml], estos cuerpos de agua al ser receptores no deben presentar concentraciones de microorganismos como se establece en la Tabla 12 de la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua, del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente., Anexo 1 pp. 330, (2015). Los puntos con mayor presencia de microorganismos fueron los ARB₍₊₁₀₀₎, ARM₍₊₁₀₀₎ y ARP₍₊₁₀₀₎ respectivamente, ambos coinciden en el mes de junio, siendo superior en el punto ARB₍₊₁₀₀₎. Como se detalla en la Figura 17.



Figura 17. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y UFC en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de los distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

Durante los meses de junio y agosto, mismos que corresponden a la época seca en nuestra área de estudio; es donde pudimos encontrar las concentraciones con niveles más elevados de microorganismos, esto debido a las actividades agrícolas-ganaderas desarrolladas en las riveras. Además de las descargas urbanas y hospitalarias que se da en el cuerpo hídrico, estas características se relaciona con el estudio elaborado por Cocha (2011) donde, establece que los niveles de contaminación de la cuenca hídrica se deben a los desechos orgánicos producidos por animales (ganado vacuno) en zonas medias y altas de la subcuenca, mientras que en las zonas bajas y urbanas la contaminación aumenta por descarga de aguas residuales, por lo cuál existe un aumento considerable de la concentración de coliformes totales.

La utilización de métodos convencionales para el tratamiento del agua potable realizado en las tres ciudades no es suficiente para la desinfección del agua, ya que como afirma Cocha (2011), el grado de tratamiento de la fuente depende de la naturaleza del contaminante y del nivel de contaminación fecal presente en el agua,

siendo tratada antes de su consumo sin tener elementos nocivos para la salud (Cevallos & Vallejos, 2018).

5.3 Resultados de la Estimación de Antibióticos

5.3.1 Datos de la muestra “Blanco”

Se consideró primordial elaborar los datos de la muestra “blanco”, ya que desde estos valores se pudo delimitar las curvas de calibración y las concentraciones para los distintos resultados de banda, de los puntos muestreados en los tres cantones los resultados de la muestra “blanco” se indica en la siguientes tablas de la 13 a la 15:

Para Betalactámicos:

Tabla 13. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para betalactámicos.

Rojo		Verde		Azul	
Media	Concentración	Media	Concentración	Media	Concentración
94	10	160	10	191	10
123	1	147	1	181	1
129	0,1	182	0,1	202	0,1
139	0,01	123	0,01	164	0,01
166	0,001	151	0,001	181	0,001
178	0,0001	164	0,0001	158	0,0001

Adaptado de: Chicaiza Ramírez & Ramos López, (2018)

Para Sulfamidas:

Tabla 14. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para sulfamidas.

Rojo		Verde		Azul	
Media	Concentración	Media	Concentración	Media	Concentración
124	10	107	10	169	10
136	1	132	1	174	1
117	0,1	141	0,1	160	0,1
148	0,01	151	0,01	172	0,01
170	0,001	157	0,001	165	0,001
103	0,0001	170	0,0001	118	0,0001

Adaptado de: Chicaiza Ramírez & Ramos López, (2018)

Para Tetraciclinas:

Tabla 15. Correspondientes a las concentraciones [mg/l] de las bandas: roja, verde y azul para tetraciclinas.

Rojo		Verde		Azul	
Media	Concentración	Media	Concentración	Media	Concentración
121	1000	126	1000	169	1000
143	100	151	100	174	100
168	10	157	10	160	10
161	1	169	1	172	1
151	0,1	175	0,1	165	0,1
166	0,01	177	0,01	118	0,01

Elaborado por: Silva A. 2019.

5.3.2 Resultados de Curvas de Calibración

Una vez realizada la determinación de la muestra en “blanco”, se procedió a la elaboración de curvas de calibración, que ayuden a la estimación de las concentraciones de los antibióticos. Los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos de la curva de calibración fueron 0,9648, 0,9484 y 0,8938 para betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas, esto se compara con el estudio de Espinoza (2018) donde presentó un coeficiente de correlación de 0,9977 para el estudio de sulfonamidas en leche cruda, algo similar en la investigación de Giler Molina (2018) donde fue de 0.99903 afirmando que los valores R^2 obtenidos próximo a 1 determinan su aceptabilidad.

Para los betalactámicos, se consideró los valores medios de la banda Roja siendo estos los que tienen un orden adecuado con respecto a sus concentraciones, para

obtener la curva con su respectiva ecuación y R^2 para el cálculo de concentraciones de antibióticos, que se detalla en la Figura 18.

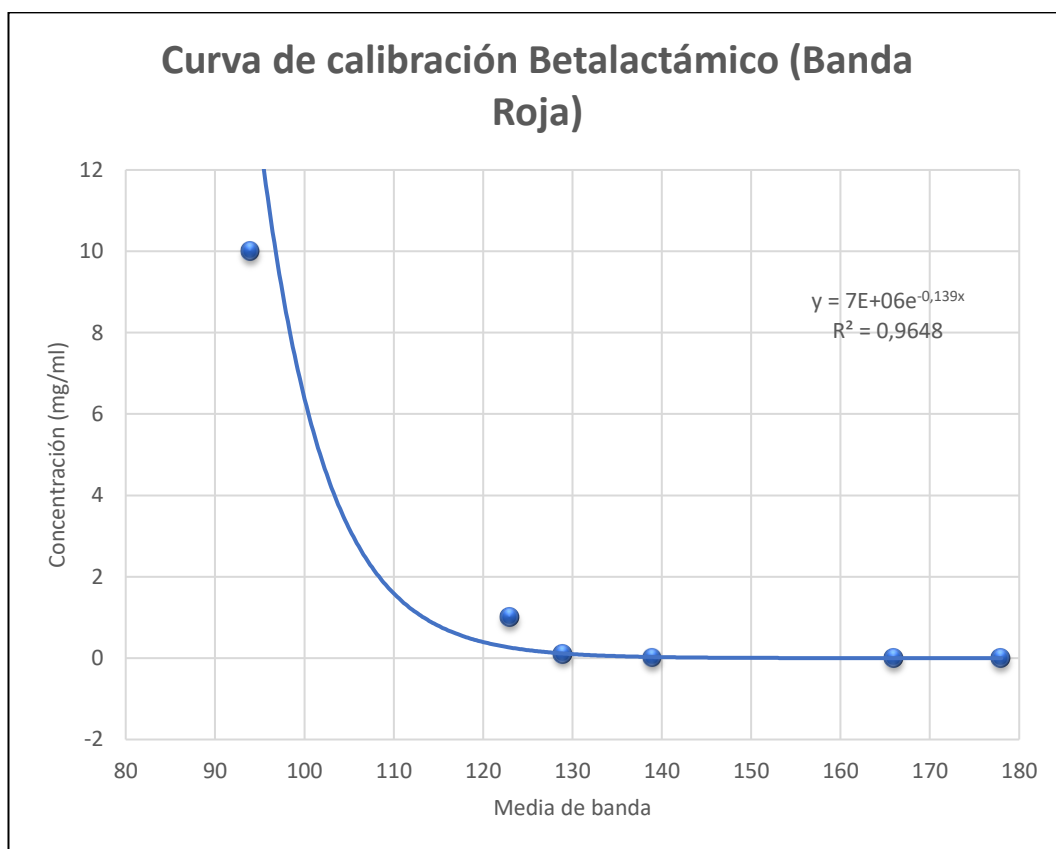


Figura 18. Obtención de la Curva de calibración de betalactámicos con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Con su pertinente ecuación: $y = 7E + 06e^{-0,139x}$, y su $R^2 = 0,9648$

En el caso de las sulfamidas, se consideró los valores medios de la banda verde siendo estos los que siguen un orden adecuado con respecto a las concentraciones, para obtener la curva con su respectiva ecuación y R^2 para el cálculo de concentraciones de antibióticos que se indica en la figura 10:

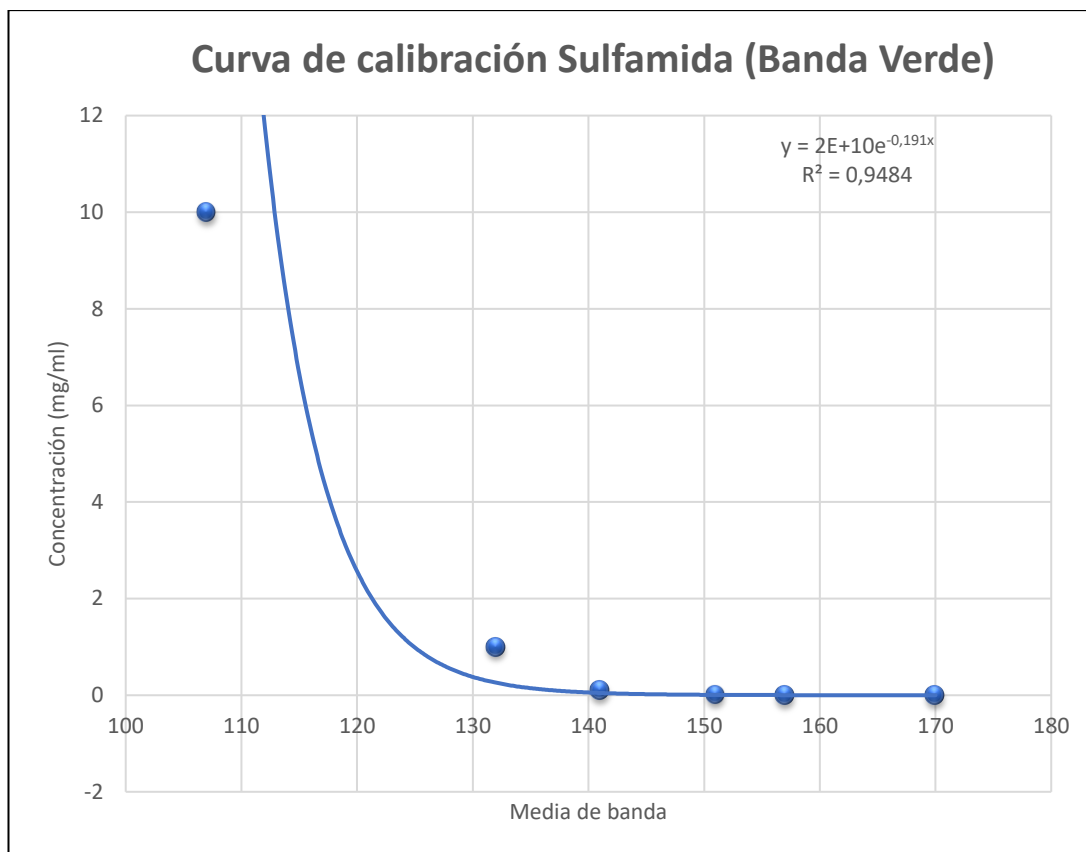


Figura 19. Obtención de la Curva de calibración de sulfamidas con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.
 Elaborado por: Silva, A. 2019.

Con su respectiva ecuación: $y = 2E + 10e^{-0,191x}$, y su $R^2 = 0,9484$.

Finalmente, para las tetraciclinas se consideró los valores medios de la banda verde siendo estos los que siguen un orden adecuado con respecto a las concentraciones, para obtener la curva con su respectiva ecuación y R^2 para el cálculo de concentraciones de antibióticos que se detallan en la figura 11:

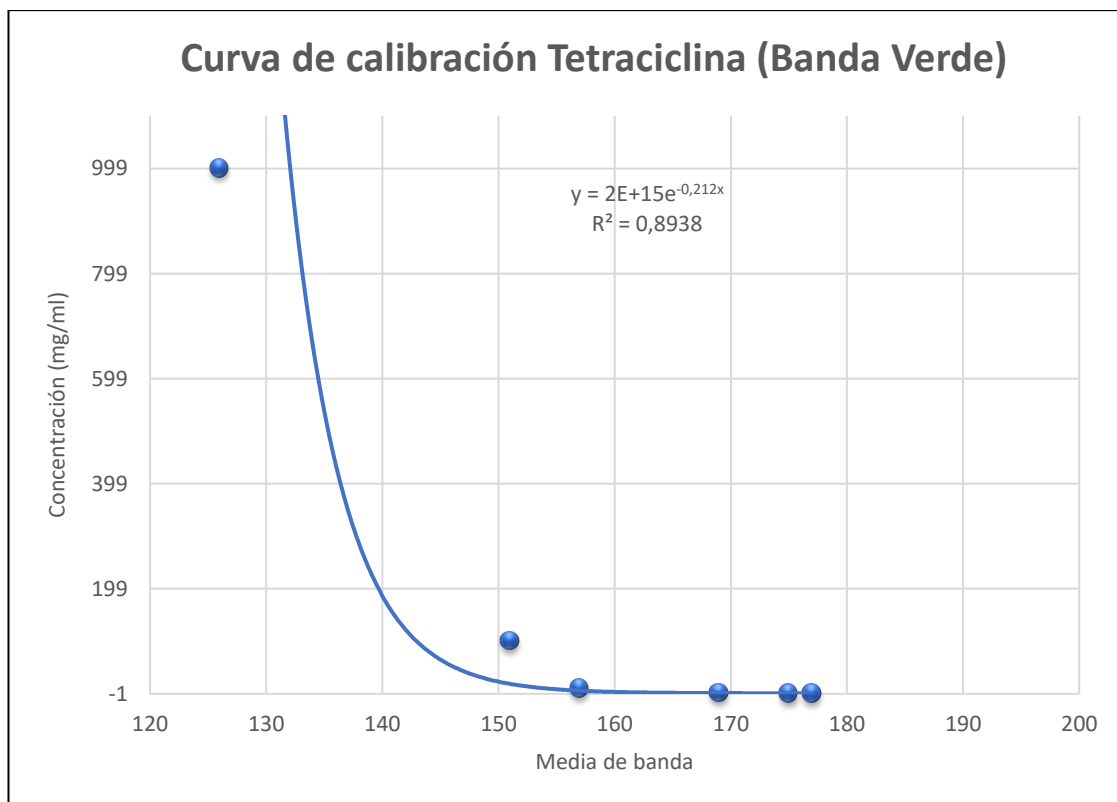


Figura 20. Obtención de la Curva de calibración de tetraciclinas con las cantidades examinadas de las imágenes del blanco.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Con su respectiva ecuación: $y = 2E + 15e^{-0,212x}$, y su $R^2 = 0,8938$.

Una vez realizadas las curvas se procede a calcular las concentraciones de antibióticos para cada muestra.

5.3.3 Resultados de la estimación de antibióticos

Una vez realizado el cálculo de las respectivas ecuaciones de las distintas curvas de calibración, se estimó la concentración de las muestras positivas de betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas, aplicando el mismo método que se realizó para el “blanco”, se puede observar las bandas de detección en el (Anexo 9) y los resultados de concentración a continuación en la Tablas 16 a la 19:

Tabla 16. Concentración de antibióticos del mes de abril, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.

MUESTREO N°1								
N° de muestras	Código	R	G	B	Presencia	Concentración [mg/l]		
						Beta	Tetra	Sulfa
1	ADCB	139	149	180	B,S	$2,85 \times 10^{-2}$	-	$8,74 \times 10^{-3}$
2	ADCB ₍₊₁₀₀₎	178	192	213	B,S,T	$1,26 \times 10^{-4}$	$4,20 \times 10^{-8}$	$2,37 \times 10^{-6}$
3	ARB ₍₋₁₀₀₎	158	169	197	B,S	$2,03 \times 10^{-3}$	-	$1,92 \times 10^{-4}$
4	ARB ₍₊₁₀₀₎	162	175	197	B,S,T	$1,16 \times 10^{-3}$	$1,54 \times 10^{-6}$	$6,09 \times 10^{-5}$
5	ADCM	121	128	160	B,S,T	$3,47 \times 10^{-1}$	$3,28 \times 10^{-2}$	$4,82 \times 10^{-1}$
6	ADCM ₍₊₁₀₀₎	129	136	169	B,S	$1,14 \times 10^{-1}$	-	$1,05 \times 10^{-1}$
7	ARM ₍₋₁₀₀₎	145	157	182	B,S,T	$1,24 \times 10^{-2}$	$8,93 \times 10^{-4}$	$1,90 \times 10^{-3}$
8	ARM ₍₊₁₀₀₎	143	155	179	B,S,T	$1,63 \times 10^{-2}$	$1,36 \times 10^{-3}$	$2,78 \times 10^{-3}$
9	ADCP	158	169	194	B,S,T	$2,03 \times 10^{-3}$	$5,51 \times 10^{-6}$	$1,92 \times 10^{-4}$
10	ADCP ₍₊₁₀₀₎	177	191	210	B,S,T	$1,45 \times 10^{-4}$	$5,19 \times 10^{-8}$	$2,87 \times 10^{-6}$
11	ARP ₍₋₁₀₀₎	152	164	192	B,T	$4,67 \times 10^{-3}$	$1,59 \times 10^{-5}$	-
12	ARP ₍₊₁₀₀₎	172	185	207	B,S,T	$2,90 \times 10^{-4}$	$1,85 \times 10^{-7}$	$9,02 \times 10^{-6}$

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Tabla 17. Concentración de antibióticos del mes de mayo, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.

MUESTREO N°2								
N° de muestras	Código	19 Y 20 mayo 2018				Concentración [mg/l]		
		R	G	B	Presencia	Beta	Tetra	Sulfa
1	ADCB	184	198	218	B,S,T	$5,46 \times 10^{-5}$	$1,18 \times 10^{-8}$	$7,53 \times 10^{-7}$
2	ADCB ₍₊₁₀₀₎	204	175	204	B,S,T	$3,39 \times 10^{-6}$	$1,54 \times 10^{-6}$	$6,09 \times 10^{-5}$
3	ARB ₍₋₁₀₀₎	153	165	192	B,S,T	$4,06 \times 10^{-3}$	$1,29 \times 10^{-5}$	$4,11 \times 10^{-4}$
4	ARB ₍₊₁₀₀₎	150	158	190	B,S	$6,17 \times 10^{-3}$	-	$1,57 \times 10^{-3}$
5	ADCM	150	159	192	B,S	$6,17 \times 10^{-3}$	-	$1,29 \times 10^{-3}$
6	ADCM ₍₊₁₀₀₎	163	175	204	B,S,T	$1,01 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-6}$	$6,09 \times 10^{-5}$
7	ARM ₍₋₁₀₀₎	142	152	183	B,S	$1,87 \times 10^{-2}$	-	$4,93 \times 10^{-3}$
8	ARM ₍₊₁₀₀₎	142	153	182	B,S,T	$1,87 \times 10^{-2}$	$1,64 \times 10^{-4}$	$4,07 \times 10^{-3}$
9	ADCP	160	170	202	B,S	$1,54 \times 10^{-3}$	-	$1,58 \times 10^{-4}$
10	ADCP ₍₊₁₀₀₎	158	168	200	B,S	$2,03 \times 10^{-3}$	-	$2,32 \times 10^{-4}$
11	ARP ₍₋₁₀₀₎	164	175	206	B,S	$8,81 \times 10^{-4}$	-	$6,09 \times 10^{-5}$
12	ARP ₍₊₁₀₀₎	150	159	193	B,S	$6,17 \times 10^{-3}$	-	$1,29 \times 10^{-3}$

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Tabla 18. Concentración de antibióticos del mes de junio, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.

MUESTREO N°3								
14 y 15 junio 2018					Concentración [mg/l]			
N° de muestras	Código	R	G	B	Presencia	Beta	Tetra	Sulfa
1	ADCB	145	153	190	B,S	$1,24 \times 10^{-2}$	-	$4,07 \times 10^{-3}$
2	ADCB ₍₊₁₀₀₎	161	170	203	B,S,T	$1,34 \times 10^{-3}$	$3,00 \times 10^{-5}$	$1,58 \times 10^{-4}$
3	ARB ₍₋₁₀₀₎	158	168	201	B,S	$2,03 \times 10^{-3}$	-	$2,32 \times 10^{-4}$
4	ARB ₍₊₁₀₀₎	165	176	203	B,S,T	$7,67 \times 10^{-4}$	$1,25 \times 10^{-6}$	$5,03 \times 10^{-5}$
5	ADCM	167	178	206	B,S,T	$5,81 \times 10^{-4}$	$8,18 \times 10^{-7}$	$3,43 \times 10^{-5}$
6	ADCM ₍₊₁₀₀₎	160	170	200	B,S	$1,54 \times 10^{-3}$	-	$1,58 \times 10^{-4}$
7	ARM ₍₋₁₀₀₎	179	191	213	B,S,T	$1,10 \times 10^{-4}$	$5,19 \times 10^{-8}$	$2,87 \times 10^{-6}$
8	ARM ₍₊₁₀₀₎	147	155	186	B,S,T	$9,36 \times 10^{-3}$	$1,07 \times 10^{-4}$	$2,78 \times 10^{-3}$
9	ADCP	137	146	181	B,S,T	$3,76 \times 10^{-2}$	$7,22 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-2}$
10	ADCP ₍₊₁₀₀₎	157	169	199	B,S,T	$2,33 \times 10^{-3}$	$5,51 \times 10^{-6}$	$1,92 \times 10^{-4}$
11	ARP ₍₋₁₀₀₎	160	171	199	B,T	$1,54 \times 10^{-3}$	$3,61 \times 10^{-6}$	-
12	ARP ₍₊₁₀₀₎	141	150	184	B,S,T	$2,15 \times 10^{-2}$	$3,09 \times 10^{-4}$	$7,22 \times 10^{-3}$

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Tabla 19. Concentración de antibióticos del mes de agosto, de cada uno de los puntos muestreados que dieron positivos.

MUESTREO #4								
3 Y 4 agosto 2018					Concentración [mg/l]			
N° de muestras	Código	R	G	B	Presencia	Beta	Tetra	Sulfa
1	ADCB	150	160	194	B,S,T	$6,17 \times 10^{-3}$	$3,71 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-3}$
2	ADCB ₍₊₁₀₀₎	142	151	186	B,S,T	$1,87 \times 10^{-2}$	$2,50 \times 10^{-4}$	$5,96 \times 10^{-3}$
3	ARB ₍₋₁₀₀₎	162	174	200	B,S,T	$1,16 \times 10^{-3}$	$1,91 \times 10^{-6}$	$7,37 \times 10^{-5}$
4	ARB ₍₊₁₀₀₎	156	168	195	B,S,T	$2,68 \times 10^{-3}$	$6,81 \times 10^{-6}$	$2,32 \times 10^{-4}$
5	ADCM	148	156	192	B,S,T	$8,14 \times 10^{-3}$	$1,30 \times 10^{-11}$	$2,30 \times 10^{-3}$
6	ADCM ₍₊₁₀₀₎	163	173	203	B,S,T	$1,01 \times 10^{-3}$	$2,36 \times 10^{-6}$	$8,93 \times 10^{-5}$
7	ARM ₍₋₁₀₀₎	127	131	172	B,S	$1,51 \times 10^{-1}$	-	$2,72 \times 10^{-1}$
8	ARM ₍₊₁₀₀₎	147	156	189	B,S	$9,36 \times 10^{-3}$	-	$2,30 \times 10^{-3}$
9	ADCP	138	145	192	B,S	$3,27 \times 10^{-2}$	-	$1,88 \times 10^{-2}$
10	ADCP ₍₊₁₀₀₎	116	120	169	B,S	$6,96 \times 10^{-1}$	-	2,22
11	ARP ₍₋₁₀₀₎	165	177	211	B,S,T	$7,67 \times 10^{-4}$	$1,01 \times 10^{-6}$	$4,16 \times 10^{-5}$
12	ARP ₍₊₁₀₀₎	147	155	195	B,S	$9,36 \times 10^{-3}$	-	$2,78 \times 10^{-3}$

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Los resultados de este estudio muestran la presencia de antibióticos tanto en las zonas de captación y descarga debido a los residuos generados en las actividades agrícolas, ganaderas, avícolas y porcícolas, desarrolladas en las riveras de los tres cantones, estos resultados concuerdan con el estudio realizado por los autores Lara, del Olmo-Iruela, Cruces-Blanco, Quesada-Molina, & García-Campaña (2012), donde

la presencia de antibióticos consumidos por humanos y animales se introducen continuamente al medio acuático por las diferentes descargas de aguas residuales domésticas, farmacéuticas, escurriduras de animales, granjas y compost de estiércol animal utilizados en la agricultura.

La diferenciación de antibióticos provenientes de granjas animales tiene un gran impedimento para su diferenciación, ya que como se afirma en el estudio de Máttar, Calderón, Sotelo, & Sierra (2009), en muchas granjas utilizan antibióticos de uso humano en animales, ya que su costo es menor a los distribuidos para la medicina animal.b

Las concentraciones estimadas de betaláctamicos en agua potable se encontró en Piñas (ADCP) con una estimación de $6,96 \times 10^{-1}$ [mg/l] en el mes de agosto, seguido de Marcabelí (ADCM) con $3,47 \times 10^{-1}$ [mg/l] en el mes de abril al igual que Balsas (ADCB) con una concentración de $2,85 \times 10^{-2}$ [mg/l], con lo que respecta al agua residual las más altas fue en Marcabelí ($ARM_{(-100)}$) con $1,51 \times 10^{-1}$ [mg/l] en el mes de agosto, en Piñas ($ARP_{(+100)}$) $2,85 \times 10^{-2}$ [mg/l] en junio y en Balsas ($ARB_{(+100)}$) $6,17 \times 10^{-3}$ [mg/l] en mayo.

Las concentraciones estimadas de sulfamidas en agua potable se encontró en Piñas ($ADCP_{(+100)}$) con una estimación de 2,22 [mg/l] en el mes de agosto, seguido de Marcabelí (ADCM) con $4,82 \times 10^{-1}$ [mg/l] en el mes de abril al igual que Balsas (ADCB) con una concentración de $8,74 \times 10^{-3}$ [mg/l], con lo que respecta al agua residual las más altas fue en Marcabelí ($ARM_{(-100)}$) con $2,72 \times 10^{-1}$ [mg/l] en el mes de agosto, en Piñas ($ARP_{(+100)}$) $7,22 \times 10^{-3}$ [mg/l] en junio y en Balsas ($ARB_{(+100)}$) $1,57 \times 10^{-3}$ [mg/l] en mayo.

Las concentraciones estimadas de tetraciclinas en agua potable se encontró en Marcabelí (ADCM) con una estimación de $3,28 \times 10^{-2}$ [mg/l] en el mes de abril, seguido de Piñas (ADCP) con $7,22 \times 10^{-4}$ [mg/l] en el mes de junio, en Balsas ($ADCB_{(+100)}$) con

una concentración de $2,50 \times 10^{-4}$ [mg/l] en el mes de agosto, con lo que respecta al agua residual las más altas fue en Marcabelí ($ARM_{(+100)}$) con $1,36 \times 10^{-3}$ [mg/l] en el mes de abril, en Piñas ($ARP_{(-100)}$) $3,09 \times 10^{-4}$ [mg/l] en junio y en Balsas ($ARB_{(-100)}$) $1,29 \times 10^{-5}$ [mg/l] en mayo.

Los trabajos realizados por Torres (2015) y Guamán & Noemi (2019) son estudios similares, pero realizado en muestras de leche cruda, con respecto a la detección tetraciclina y betalactámicos (oxitetraciclina), donde a través de las normas y límites permisibles establecidos para los productos lácteos y alimentos, se puede predecir el riesgo que tienen en la salud humana, sin embargo no existe una normativa a nivel local, regional o internacional que describa los posibles daños que puedan ocasionar en los cuerpos hídricos.

5.3.3.1 Relación concentración vs tiempo

5.3.3.1.1 Antibióticos Betalactámicos

La presencia de betalactámicos en todas las muestras realizadas durante los meses de estudio, podría deberse al uso indiscriminado de este antibiótico, mismo que se utiliza para afecciones del ganado; este es excretado del organismos del animal cuando no es asimilado por completo, esto se puede confirmar con el estudio realizado en industrias lácteas por los autores Motta, Gamarra, Benavides, & Roque (2009), quienes afirman que la mayoría de granjeros tratan infecciones en el ganado utilizando antibióticos de espectro dominante sobre las bacterias gram positivas de comportamiento tiempo/dependiente como lo son los Betalactámicos, utilizados para el tratamiento de mastitis en el ganado vacuno.

Es importante considerar que el Kit AuroFlowTM tiene mayor alcance de detección con el grupo de betalactámicos que son 14, por esta razón tendrá mayor amplitud de detección para este tipo de antibiótico; por otro lado, son 3 tetraciclinas y 11 sulfonamidas. Esto también dependerá del tipo de kit a usarse porque existe el TriSensor utilizado por el autor Sisalima (2009), para la detección de residuos antibióticos en leche donde detecta 13 betalactámicos, 4 tetraciclinas y 11 sulfonamidas.

La presencia de Betalactámicos en las zonas o tomas de captación de los distintos puntos muestreados [ADCB, ADCM y ADCP], permitió observar que para el cantón Balsas y Marcabelí en los puntos ADCB y ADCM respectivamente coinciden en el mes de abril donde, se presentó una cantidad considerable de residuos betalactámicos, con una concentración mayor en el punto ADCM. Mientras que para el cantón Piñas el punto ADCP en junio es donde existió mayor cantidad de este antibiótico, como se detalla en la Figura 21.

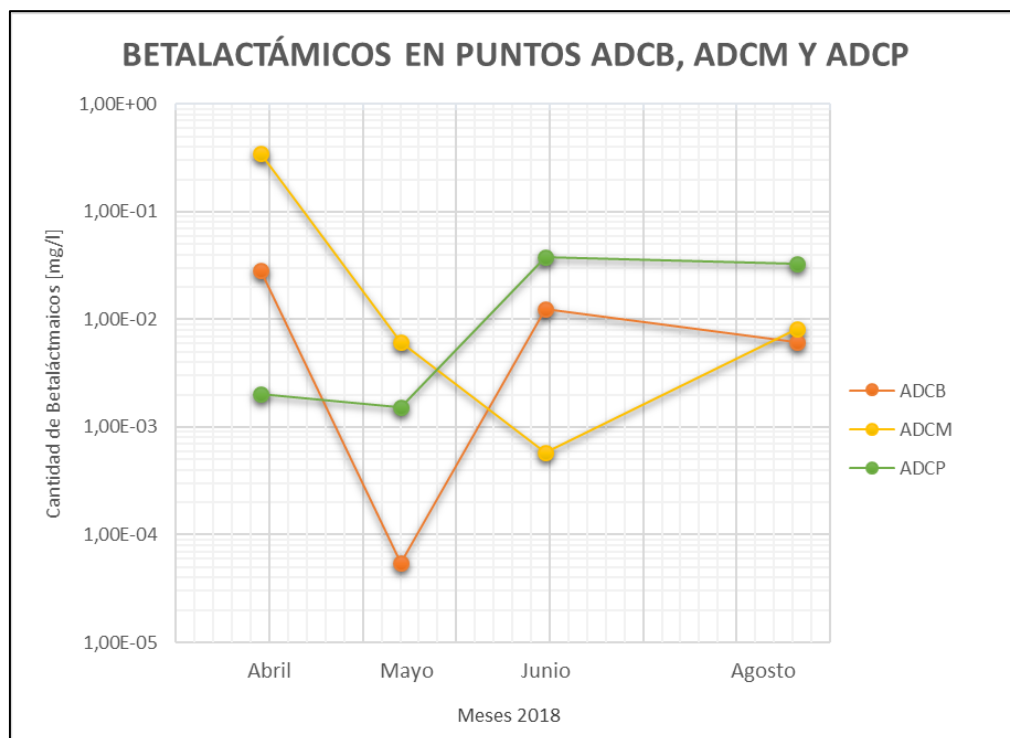


Figura 21. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en los puntos de captación de las distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Betalactámicos en el agua potable después de ser tratada en las distintas plantas de las ciudades [ADCB₍₊₁₀₀₎, ADCM₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎] permitió observar que para el cantón Balsas y Piñas en los puntos ADCB₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎ respectivamente coinciden en el mes de agosto, donde se presentó una cantidad considerable de residuos betalactámicos, con una concentración mayor en el punto ADCP₍₊₁₀₀₎, mientras que para el cantón Marcabelí el punto ADCM₍₊₁₀₀₎ en el mes abril es donde existió mayor cantidad de este antibiótico. Esto se observa en la Figura 22.

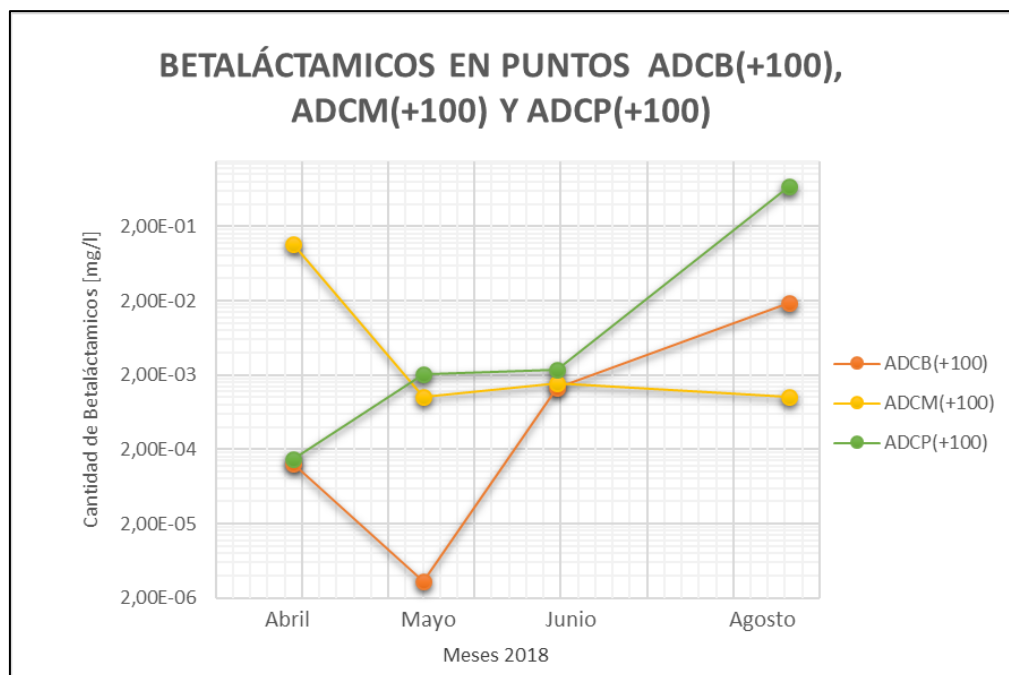


Figura 22. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Betalactámicos en las aguas residuales o servidas 100 metros antes de los distintos camales municipales de cada una de las ciudades [$ARB_{(-100)}$, $ARM_{(-100)}$ y $ARP_{(-100)}$], permitió observar que en diferentes meses se presentaron niveles altos de betalactámicos, es decir que para Balsas el punto $ARB_{(-100)}$ se dio en mayo, mientras que para Marcabelí el punto $ARM_{(-100)}$ fue en agosto y para Piñas el punto $ARP_{(-100)}$ fue en abril, como se detalla en la Figura 23.

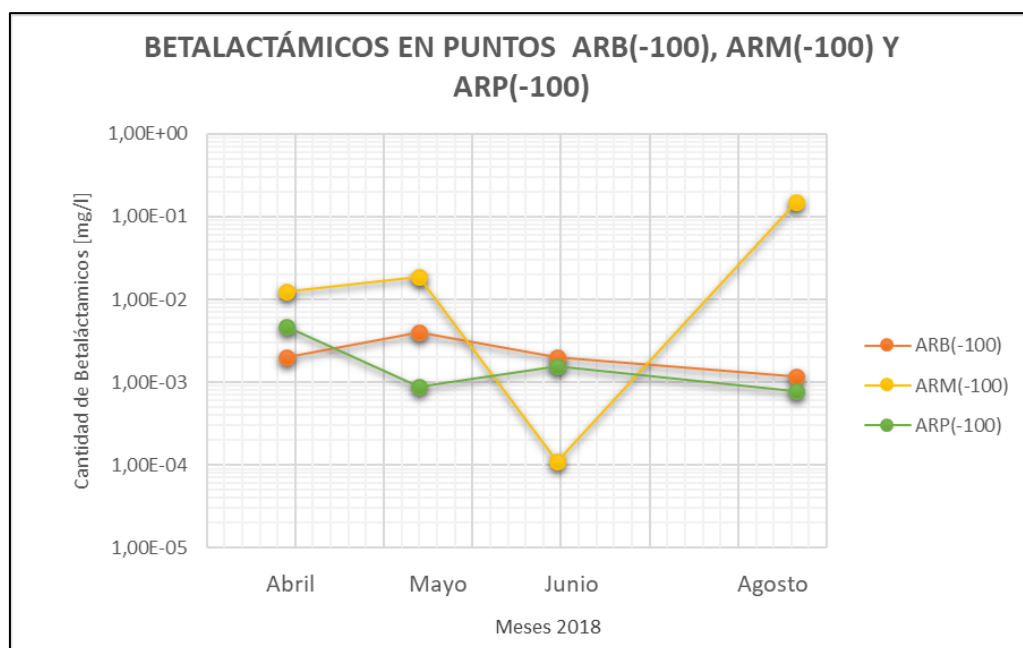


Figura 23. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Betalactámicos en las aguas residuales o servidas, 100 metros después de los distintos camales municipales de cada ciudad [ARB₍₊₁₀₀₎, ARM₍₊₁₀₀₎ y ARP₍₊₁₀₀₎], permitió observar que para el cantón Balsas y Marcabelí, en los puntos ARB₍₊₁₀₀₎ y ARM₍₊₁₀₀₎ respectivamente coinciden en el mes de mayo, donde se presentó una cantidad considerable de residuos betalactámicos, con una cantidad mayor en el punto ARM₍₊₁₀₀₎, mientras que para el cantón Piñas el punto ARP₍₊₁₀₀₎ fue en junio donde existió mayor cantidad de este antibiótico, como se detalla en la Figura 24.

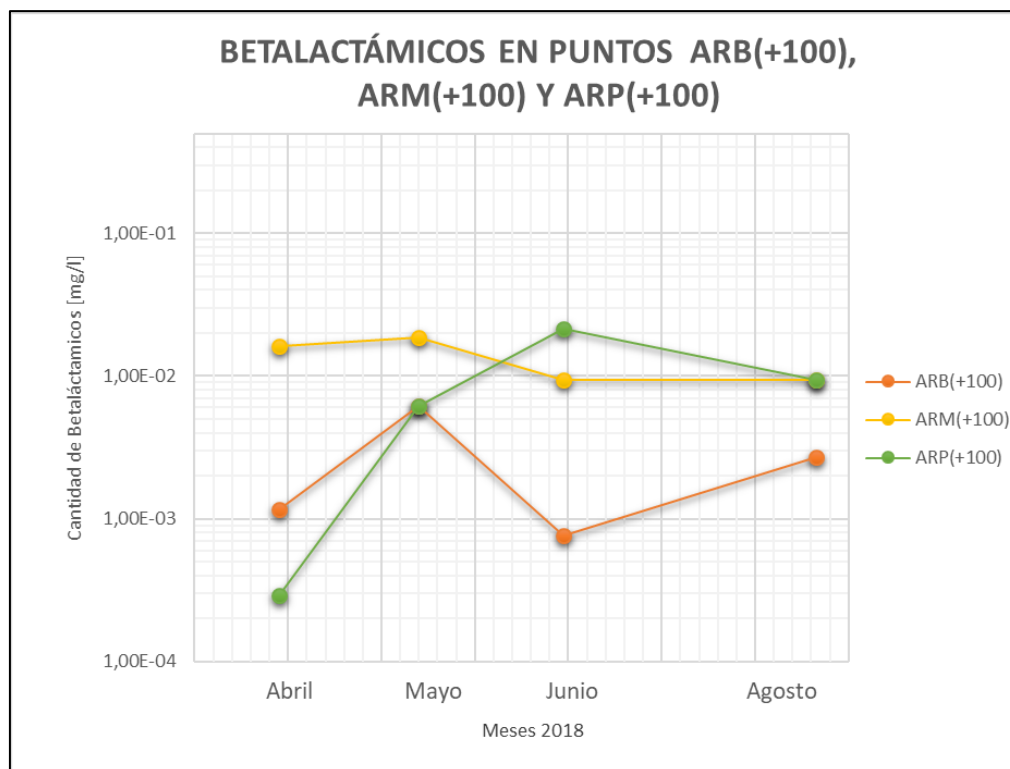


Figura 24. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de las distintas ciudades.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.3.3.1.2 Antibióticos Sulfamidas

Una vez realizado el estudio se determinó que la presencia de sulfamidas en el agua, se debe a las heces de los animales, las cuales poseen altas concentraciones de este antibiótico que son excretados al cuerpo de agua o muchas de las veces los excrementos son utilizados como fertilizantes en la agricultura, infiltrándose en las aguas subterráneas, esto se afirma en el estudio elaborado por los autores Hernández-Barrera, Angarita-Merchán, & Prada-Quiroga (2017) donde, dice que en especies animales de producción pueden excretar intacto el antibiótico hasta el 30% y 90% de este.

La presencia de Sulfamidas en las zonas o tomas de captación de los distintos puntos muestreados [ADCB, ADCM y ADCP], permitió observar que para el cantón Balsas y Marcabelí en los puntos ADCB y ADCM respectivamente coinciden en el mes abril donde se presentó una cantidad considerable de residuos de sulfamidas, con una concentración mayor en el punto ADCM; mientras que para el cantón Piñas el punto ADCP, en agosto es donde existió mayor cantidad de este antibiótico, como se detalla en la Figura 25.

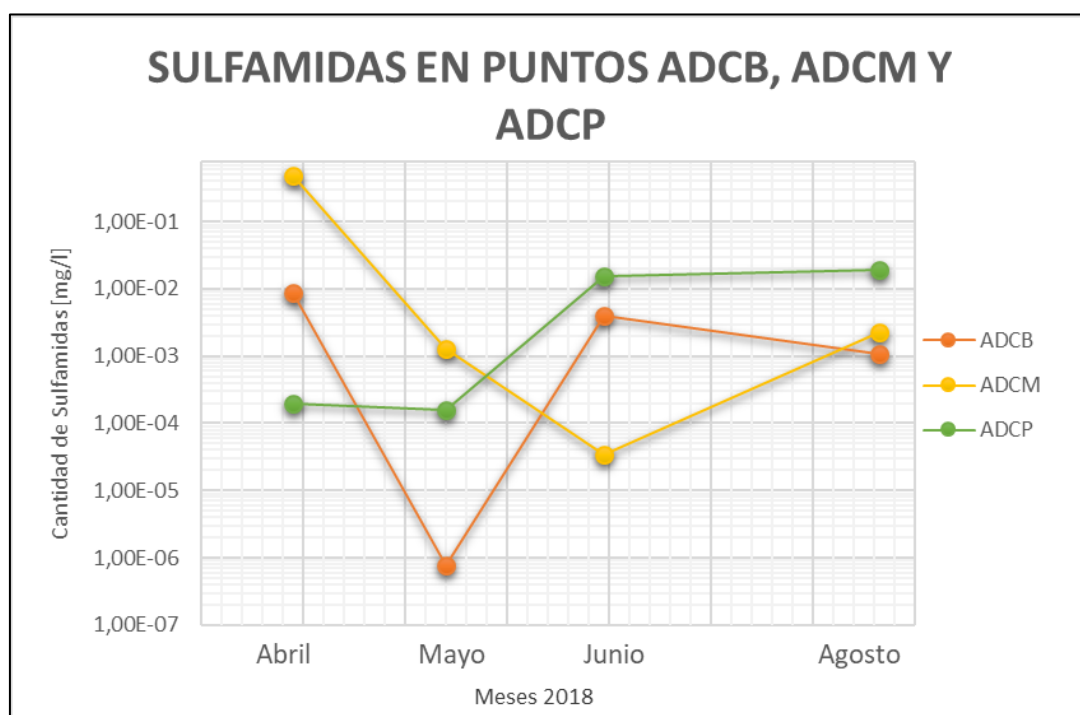


Figura 25. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de sulfamidas en los puntos de captación de las distintas ciudades.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Sulfamidas en el agua potable después de ser tratada en las distintas plantas de las ciudades [ADCB₍₊₁₀₀₎, ADCM₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎], permitió observar que para el cantón Balsas y Piñas en los puntos ADCB₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎ respectivamente coinciden en el mes de agosto, presentando una cantidad considerable de residuos de sulfamidas, con una concentración mayor

en el punto ADCP₍₊₁₀₀₎, mientras que para el cantón Marcabelí el punto ADCM₍₊₁₀₀₎ en el mes abril, donde existió mayor cantidad de este antibiótico. Esto se observa en la Figura 26.

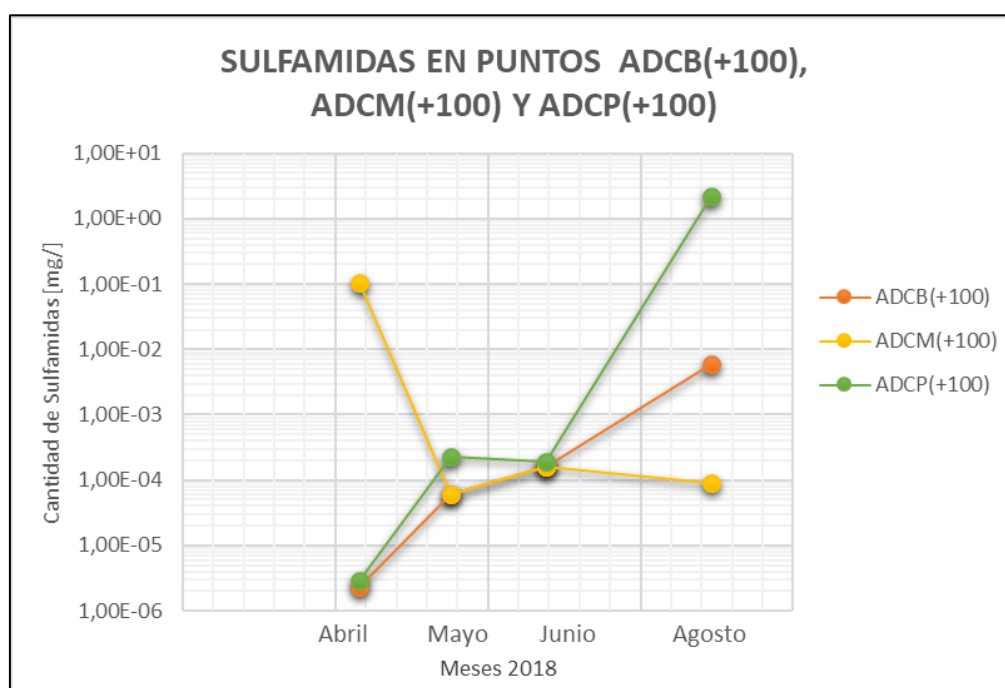


Figura 26. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de sulfamidas en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades. Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Sulfamidas en las aguas residuales a 100 metros antes de los distintos canales municipales [ARB₍₋₁₀₀₎, ARM₍₋₁₀₀₎ y ARP₍₋₁₀₀₎], permitió observar que en diferentes meses se presentaron niveles altos de concentración, es decir que para Balsas el punto ARB₍₋₁₀₀₎ se dio en mayo, mientras que para Marcabelí el punto ARM₍₋₁₀₀₎ fue en agosto y para Piñas el punto ARP₍₋₁₀₀₎ fue en mayo, ya que en los meses de abril y junio no se encontraron residuos de este antibiótico, como se detalla en la Figura 27.

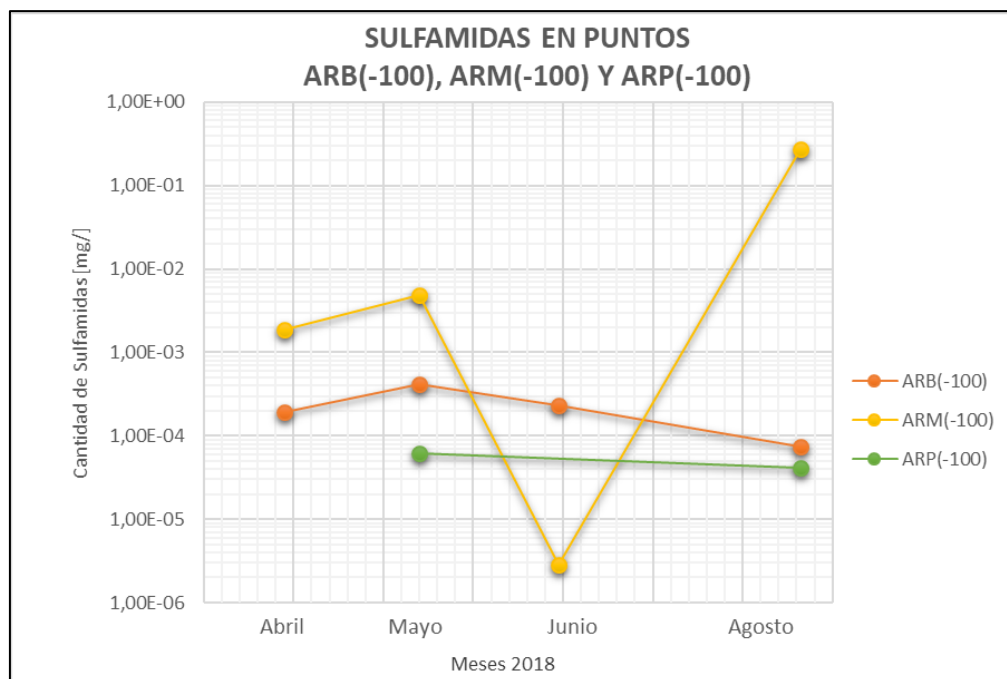


Figura 27. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros antes de los canales municipales de las distintas ciudades.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Sulfamidas en las aguas residuales, a 100 metros después de los distintos canales municipales [ARB(+100), ARM(+100) y ARP(+100)], permitió observar que para el cantón Balsas y Marcabelí, en los puntos ARB(+100) y ARM(+100) respectivamente, coinciden en el mes de mayo donde se presentó una cantidad considerable de residuos de sulfamidas, con elevada concentración en el punto ARM(+100), mientras que para el cantón Piñas, el punto ARP(+100), fue en junio donde existió mayor cantidad de este antibiótico, como se detalla en la Figura 28.

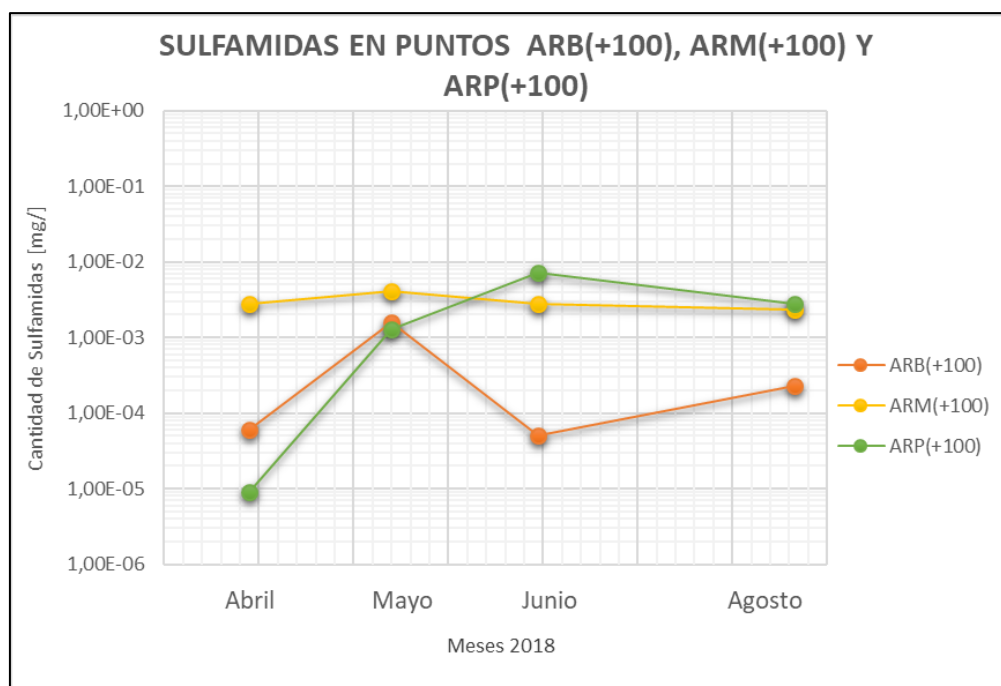


Figura 28. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de betalactámicos en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de las distintas ciudades.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.3.3.1.3 Antibióticos Tetraciclinas:

Una vez que se realizó el estudio se observó que la presencia de tetraciclinas es mínima y muy dispersa en el área de estudio, a pesar de ser utilizadas ampliamente en medicina humana y veterinaria, principalmente como promotores del crecimiento en animales de producción y aplicadas en la agricultura (Jara, 2007). La baja concentración de este antibiótico estaría relacionado con el pH neutro encontrado en los tres cantones, ya que como afirma el autor Acevedo (2014), que estas son estables a pH ácidos y muy sensibles a pH básicos, además asegura que su acumulación y absorción se da principalmente en la superficie del suelo, por lo que es poco probable que sean encontrados en cuerpos superficiales de agua.

La presencia de Tetraciclinas en las zonas de captación de los puntos muestreados [ADCB, ADCM y ADCP], permitió observar que, en diferentes meses se presentaron niveles dispersos de tetraciclinas, comenzando por el cantón Balsas donde el punto ADCB, en el mes de agosto existió una concentración alta, la más baja se da en mayo, ya que en los meses de abril y junio no se encontraron residuos de tetraciclinas. Para el cantón Marcabelí el punto ADCM en el mes abril, se tuvo una concentración alta de este antibiótico, la más baja se encontró en junio, ya que los meses de mayo y agosto no se tuvo registro de residuos de tetraciclinas. Finalmente, para el cantón Piñas el punto ADCP en abril es donde existió registro mínimo de este antibiótico y la concentración alta se dio en junio, mientras que en los meses de mayo y agosto no se encontró residuos de tetraciclinas, esto se indica en la Figura 29.

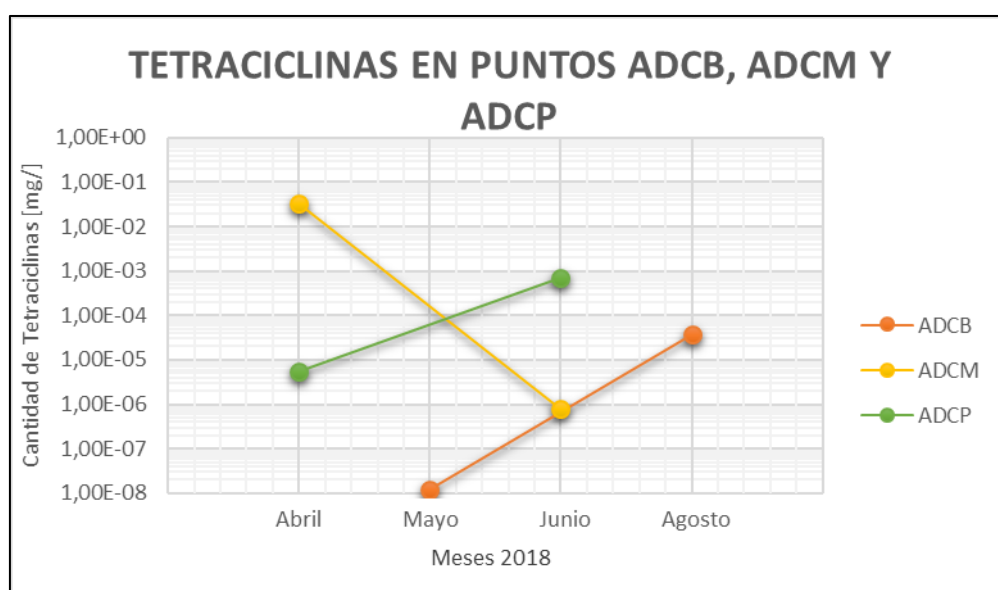


Figura 29. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de Tetraciclinas en los puntos de captación de las distintas ciudades. No se considera el punto ADCB en los meses abril y junio por que el valor fue de 0, el punto ADCM en cambio tuvo valores de 0 en los meses de mayo y agosto, y finalmente el punto ADCP en el mes de mayo y agosto tuvo valores de 0 por lo cual no se considera en estos meses esos valores. Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Tetraciclinas en el agua potable después de ser tratada en las plantas de las ciudades [ADCB₍₊₁₀₀₎, ADCM₍₊₁₀₀₎ y ADCP₍₊₁₀₀₎], permitió observar que para el cantón Balsas y Marcabelí los puntos ADCB₍₊₁₀₀₎ y ADCM₍₊₁₀₀₎ respectivamente, coinciden que el mes de agosto es donde se presentó una cantidad considerable de residuos de tetraciclinas, con mayor concentración en el punto ADCB₍₊₁₀₀₎, mientras que para el cantón Piñas, el punto ADCP₍₊₁₀₀₎ es en junio es donde existió mayor cantidad de este antibiótico; además, en el punto ADCM₍₊₁₀₀₎ no se registró tetraciclinas en los meses de abril y junio, y para el punto ADCP₍₊₁₀₀₎ fueron los meses de mayo y agosto, esto se observa en la Figura 30.

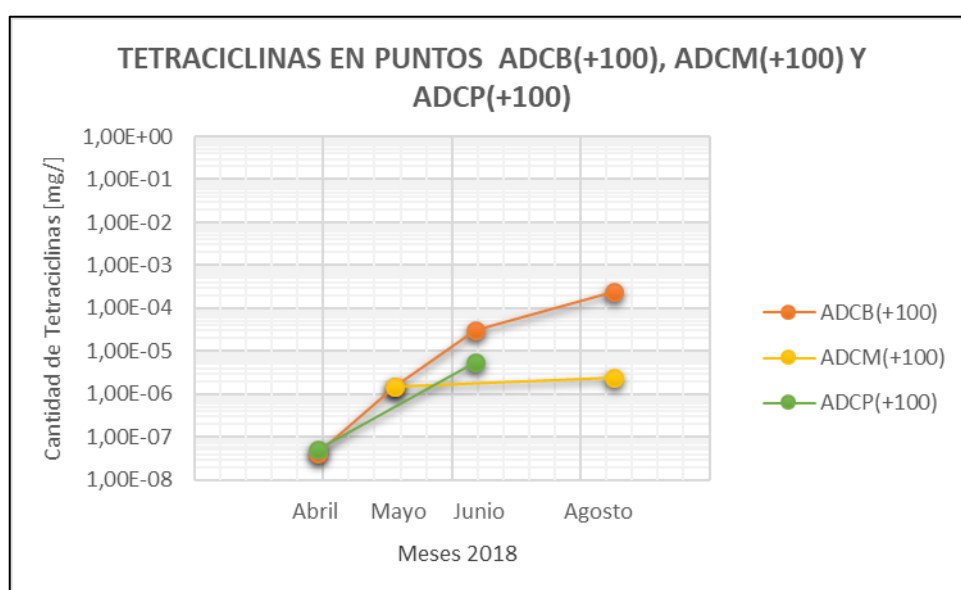


Figura 30. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en los puntos de agua potable, de las distintas ciudades. En el punto ADCM₍₊₁₀₀₎ no se considera los meses de abril y junio donde tuvieron valores de 0, de igual forma el punto ADCP₍₊₁₀₀₎ en los meses de mayo y agosto presentaron valores de 0. Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Tetraciclinas en las aguas residuales, a 100 metros antes de los camales municipales [ARB₍₋₁₀₀₎, ARM₍₋₁₀₀₎ y ARP₍₋₁₀₀₎], permitió observar que en diferentes meses se presentaron niveles altos de tetraciclinas. Es decir que para Balsas el punto ARB₍₋₁₀₀₎ es en mayo donde se tuvo una concentración

mayor de antibiótico, y el más bajo se presentó en el mes de agosto, por otra parte, los meses de abril y junio no se mostró presencia de este antibiótico. Para Marcabelí el punto $ARM_{(-100)}$ en abril, es donde existió mayor concentración de antibiótico y el más bajo fue en el mes de junio, los meses restantes que son mayo y agosto no indicaron niveles de tetraciclinas; finalmente, para Piñas el punto $ARP_{(-100)}$ en abril, es donde se determinó la mayor concentración y la menor en el mes agosto, mientras el mes de mayo es el único mes donde no se registró residuos de tetraciclinas. Como se detalla en la Figura 31.

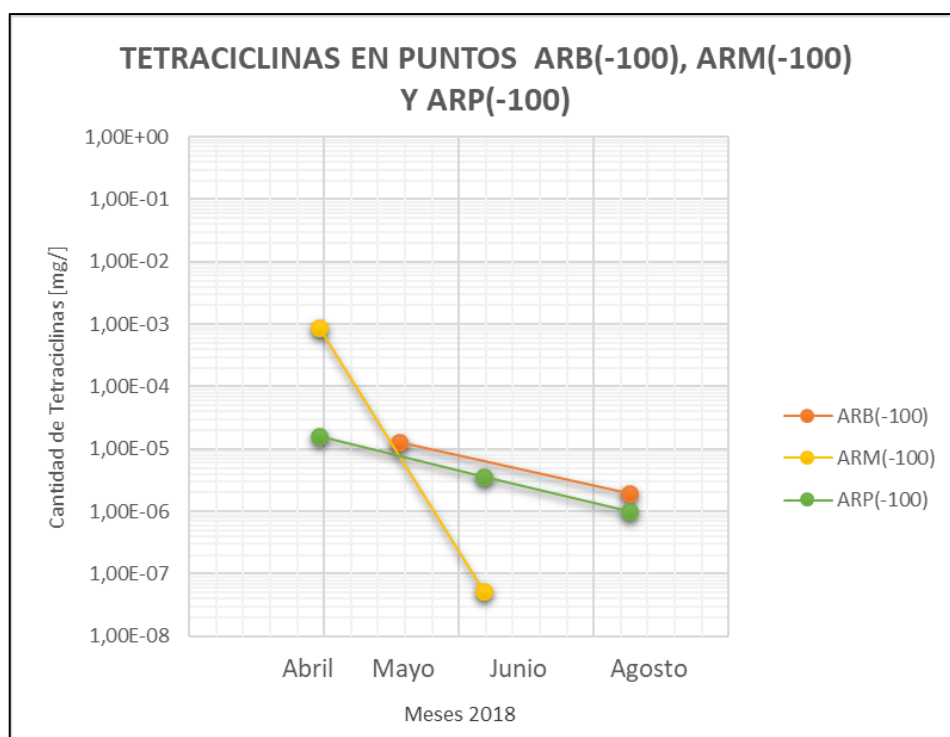


Figura 31. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en puntos de agua residual, 100 metros antes de los camales municipales de los distintas ciudades. El punto $ARB_{(-100)}$ en los meses de mayo y junio los valores fueron de 0, por lo cual no se los considera. El punto $ARM_{(-100)}$ en los meses de mayo y agosto sus valores fueron de 0, por lo cual no son tomados en cuenta. Finalmente en el punto $ARP_{(-100)}$ únicamente en el mes de mayo se dio el valor de 0.

Elaborado por: Silva, A. 2019.

La presencia de Tetraciclinas en las aguas residuales, a 100 metros después de los camales municipales [$ARB_{(+100)}$, $ARM_{(+100)}$ y $ARP_{(+100)}$], permitió

observar que, en diferentes meses se presentaron niveles altos de tetraciclinas, es decir que para Balsas el punto $ARB_{(+100)}$ es en agosto donde se tuvo una cantidad mayor de antibiótico, y el más bajo se presentó en el mes de abril, siendo únicamente el mes de mayo donde no se encontró este antibiótico. Para los cantones Marcabelí y Piñas los puntos $ARM_{(+100)}$ y $ARP_{(+100)}$ respectivamente coinciden en junio del 2018, donde existió una concentración considerable de tetraciclinas, con mayor presencia en el punto $ARP_{(+100)}$. El punto $ARP_{(+100)}$ no presentó residuos de este antibiótico en los meses de mayo y agosto, mientras que el punto $ARM_{(+100)}$ fue en el mes de agosto, esto se observa en la Figura 32.

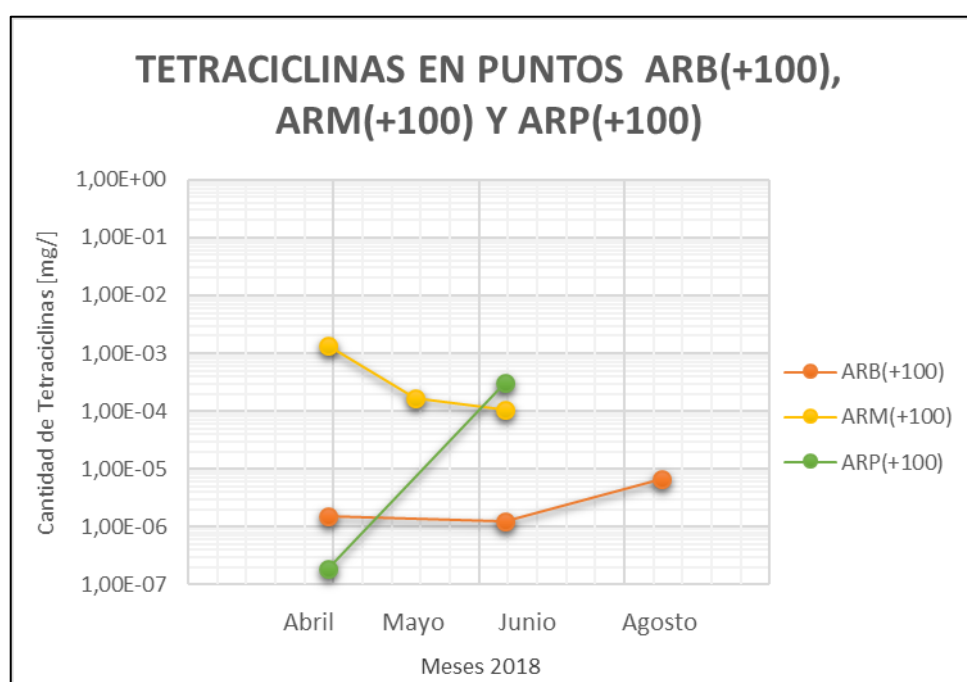


Figura 32. Gráfico pertenecientes a la comparación de relación del tiempo y concentración de tetraciclinas en puntos de agua residual, 100 metros después de los camales municipales de las distintas ciudades. En el punto $ARB_{(+100)}$ en el mes de mayo se determinó el valor de 0, por ese motivo no se considera en este mes, en el punto $ARM_{(+100)}$ se obtuvieron valores de 0 en el mes de agosto, por lo cual no se considera para este mes. Finalmente el punto $ARP_{(+100)}$ no se considera en el mes de mayo y agosto donde los valores fueron de 0, por lo cual no se considera para estos meses.
Elaborado por: Silva, A. 2019.

5.3.4 Resultados de mapas ilustrativos.

De acuerdo a las concentraciones estimadas de los antibióticos se elaboró mapas ilustrativos, que permita ver el comportamiento y distribución de estos, en los distintos ríos, quebradas y zonas de captaciones de los cantones Balsas, Marcabelí y Piñas, este tipo de investigación concuerda con el estudio realizado por Pérez & Pacheco (2004) donde por medio de el uso de Sistemas de Información Geográfica se diseño mapas de vulnerabilidad y de la distribución espacial con lo que respecta a concentraciones de nitratos, al igual que el estudio realizado por Chinchihualpa (2018) donde por medio de está herramienta obtuvo resultados de vulnerabilidades de contaminantes en el recurso hídrico estudiado.

5.3.4.1 Condición de la Presencia de los Antibióticos Betalactámicos:

La condición de la presencia de betalactámicos en Balsas se indica en el gráfico descrito en el (Anexo 10), estableciendo muy altas en los puntos ADCB y ADCB₍₊₁₀₀₎ y bajas en los puntos ARB₍₋₁₀₀₎ y ARB₍₊₁₀₀₎.

La estimación de cómo sería el esparcimiento de este antibiótico, se determinó menor concentración en el agua potable y en las zonas de descarga en los siguientes puntos ADCB₍₊₁₀₀₎ ARB₍₋₁₀₀₎ y ARB₍₊₁₀₀₎, en ese orden respectivamente. Mientras que la mayor concentración se presentó en la zona de captación en el punto ADCB como se puede observar en el gráfico del (Anexo 11).

La condición de la presencia de betalactámicos en Marcabelí, se estableció muy alta en los puntos ADCM, ADCM₍₊₁₀₀₎ y ARM₍₋₁₀₀₎, concentraciones medias en el punto ARM₍₊₁₀₀₎ como se muestra en el gráfico del (Anexo 12).

La estimación de cómo sería el esparcimiento de este antibiótico, determinó menor concentración en la vertiente proveniente de El Caucho es decir en el punto ADCM y $ARM_{(+100)}$ respectivamente, mientras que mayor se presentó en el agua potable de la zona central de la ciudad en el punto $ADCM_{(+100)}$ como se muestra en el (Anexo 13).

La condición de la presencia de betalactámicos en Piñas, se estableció la concentración muy alta en los puntos $ADCP_{(+100)}$ y ADCP, la baja se dio $ARP_{(-100)}$ y las medias en el punto $ARP_{(+100)}$ como se puede observar en el gráfico del (Anexo 14).

El esparcimiento de este antibiótico de mayor concentración se determinó en los puntos $ARP_{(-100)}$ y $ARP_{(+100)}$ ambos pertenecientes al río Piñas, los puntos ADCP y $ADCP_{(+100)}$ pertenecientes a las zonas de captación son los de menor presencia como se detalla en el gráfico del (Anexo 15).

5.3.4.2 Condición de la Presencia de los Antibióticos Sulfamidas:

La concentración de sulfamidas para el cantón Balsas, se determinó altas en los puntos ADCB y $ADCB_{(+100)}$ ambos provenientes de la vertiente Santa Elena, mientras que medios se dio en el punto $ARB_{(+100)}$, y menores se presentó en el punto $ARB_{(-100)}$, esto se encuentra detallado en el (Anexo 16).

El esparcimiento de este antibiótico, se concentró en mayor parte en el punto ADCB, mientras que menor presencia se dio en los puntos $ADCB_{(+100)}$, $ARB_{(-100)}$ y $ARB_{(+100)}$, esto se indica en el gráfico del (Anexo 17).

La condición de presencia de sulfamida en Marcabelí, se determinó altas en los puntos ADCM y $ARM_{(-100)}$, ambos provenientes de la pequeña vertiente El Caucho, mientras que valores medios se dio en el punto $ADCM_{(+100)}$, y

menores en el punto $ARM_{(+100)}$ perteneciente al Río Marcabelí como se puede observar en el (Anexo 18).

El esparcimiento de este antibiótico, se dio en menor presencia en la zona de captación de la pequeña vertiente El Caucho en el punto ADCM y en las zonas de descarga de aguas servidas de la ciudad que son los puntos $ARM_{(-100)}$, $ARM_{(+100)}$, mientras que mayor esparcimiento fue en el punto ADCB $_{(+100)}$, proveniente del agua tratada de la pequeña vertiente Santa Elena, esto detallado en el gráfico del (Anexo 19).

La condición de presencia de sulfamidas para los distintos puntos en Piñas, se determinó concentraciones altas en los puntos ADCP $_{(+100)}$ y ADCP, los valores medios en el punto ARP $_{(+100)}$, y valores de concentraciones menores se encuentran en el punto ARP $_{(-100)}$, esto indicado en el gráfico del (Anexo 20).

El esparcimiento del antibiótico, se encontró en menor presencia en los puntos ADCP, ADCP $_{(+100)}$ y ARP $_{(-100)}$, mientras que el mayor esparcimiento se presentó en el punto ARP $_{(+100)}$, esto se encuentra detallado en el (Anexo 21).

5.3.4.3 Condición de la Presencia de los Antibióticos Tetraciclinas:

La condición de la presencia de tetraciclinas en Balsas, se determinó altos en los puntos ADCB $_{(+100)}$ y ADCB, ambos de la pequeña vertiente de agua Santa Elena, los valores medios en el punto ARB $_{(+100)}$, y bajos en el punto ARB $_{(-100)}$ como se puede observar en el gráfico del (Anexo 22).

El esparcimiento de este antibiótico, en menor presencia fue en los puntos ADCB, y ARB $_{(-100)}$ y ARB $_{(+100)}$, y mayor esparcimiento en el punto ADCB $_{(+100)}$, esto se detalla en el gráfico del (Anexo 23).

La condición de presencia de tetraciclina para Maracabelí, se determinó altos en los puntos ADCM y $ARM_{(-100)}$, medios en el punto $ARM_{(+100)}$, y menores en el punto $ARM_{(-100)}$, como se observa en el gráfico del (Anexo 24).

El mayor esparcimiento de este antibiótico se presentó en el punto $ARM_{(+100)}$, mientras que donde se encontró menor concentración fueron los puntos ADCM, $ADCM_{(+100)}$ y $ARM_{(-100)}$, detallado de mejor forma en el (Anexo 25).

Mientras que la condición de la presencia de tetraciclinas para Piñas, se determinó altos en los puntos ADCP, $ARP_{(+100)}$ y bajos en los puntos $ADCP_{(+100)}$ y $ARP_{(-100)}$, como se indica en el gráfico del (Anexo 26).

El mayor esparcimiento se dio en el punto $ARP_{(-100)}$ y los puntos ADCP, $ADCP_{(+100)}$ y $ARP_{(+100)}$ son donde existió menor esparcimiento, esto detallado de mejor forma en el (Anexo 27).

5.3.5 Concentración [UFC] ante la presencia de antibióticos.

El orden “x, y, z, a y b” pertenece a la secuencia de las pruebas que de manera única validan los datos, al tener todas las variables existe mayor firmeza. Para establecer una correlación con las variables se consideró el resultado de “p-value” obtenido en el programa Rstudio se detalla en el (Anexo 28). Los resultados de la relación de UFC (concentración/mililitro) con la presencia de antibióticos (betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas), se obtuvo los siguientes valores de p-value: 0,6812 (UFC-betalactámicos), 0,2659 (UFC-sulfamidas) y 0,5587 (UFC-tetraciclinas), estos resultados son consistentes debido a que el autor Sánchez et al. (2003) consideró que para el análisis estadístico de su estudio el p-value debe ser mayor a 0,05 ($p > 0,05$), para que la hipótesis nula sea aceptada, al igual que el estudio realizado por los autores

Rodríguez, Gauna, Martínez, Acevedo, & Romero (2012) donde estableció correlaciones significativa negativa ($p > 0,05$) para el estudio de coliformes totales con nitratos encontrados en el agua.

Ya que no son tomados en cuenta estos datos, se los considera para valorar pruebas no paramétricas, las que permiten analizar las distintas variables en relación con la variable de obtención, esto a través de la siguiente codificación:

```
kruskal.test (ufc ~ b, data = tabla)
kruskal.test (ufc ~ s, data = tabla)
kruskal.test (ufc ~ tetra, data = tabla)
```

*Figura 33. Programación para prueba no paramétrica de los datos en R Studio.
Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).*

A través de estas pruebas ya descritas se procede a elaborar gráficos de cajas y bigotes que representen la relaciones entre variables. Específicamente lo que describen las cajas son los datos que van de un primer a tercer cuartil, abarcando datos de 50% que se acerquen a la mediana de cada rango de datos que es la línea negra, mientras que las líneas exteriores representada como la desviación estándar, los datos no esperados (atípicos) son las mediciones y puntos que se encuentran por fuera de las barras. Se obtuvieron los siguientes gráficos:

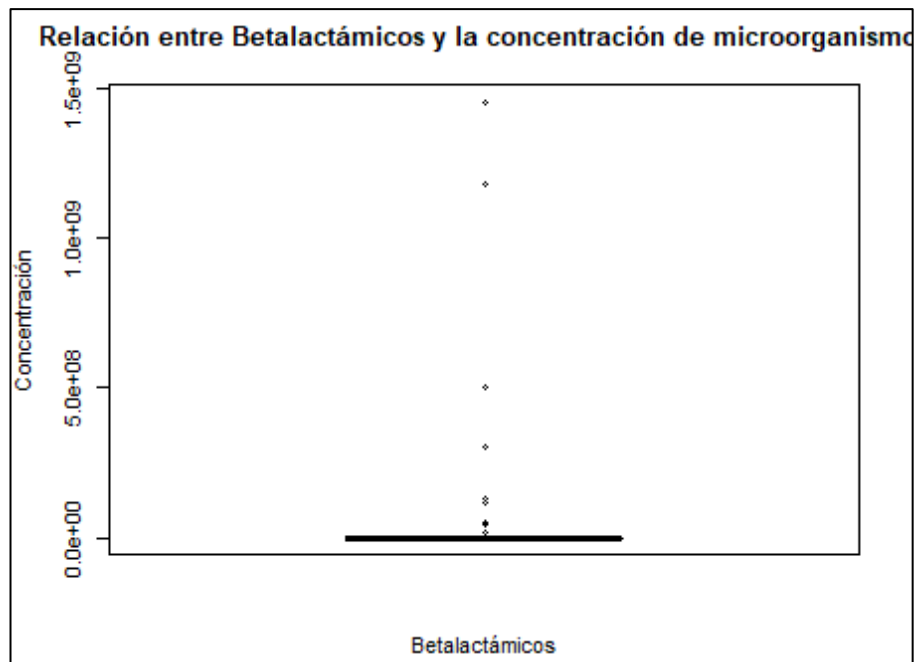


Figura 34. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de betalactámicos[mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].
Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

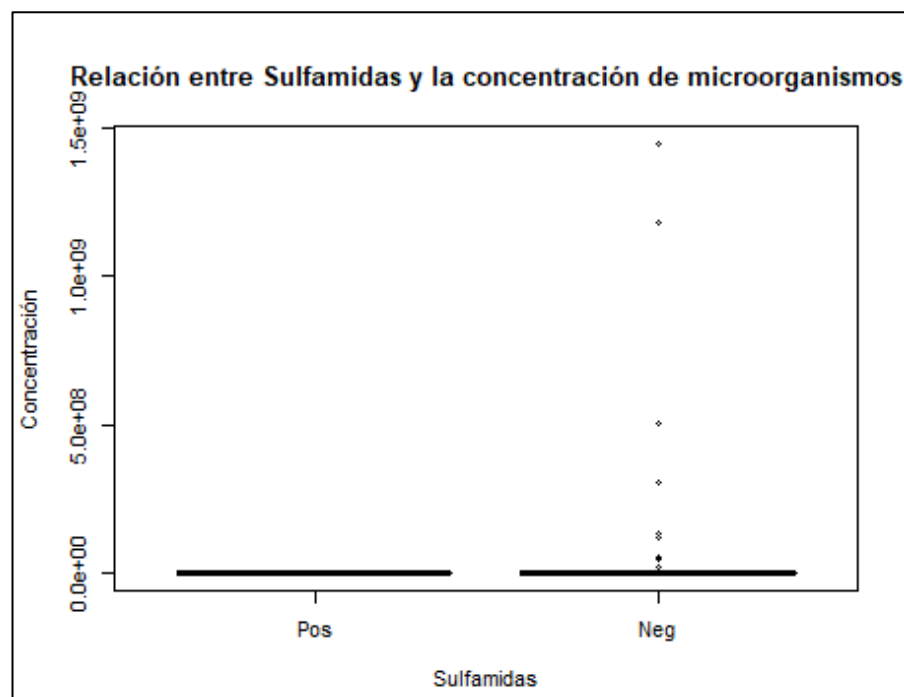


Figura 35. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de sulfamidas [mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].
Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

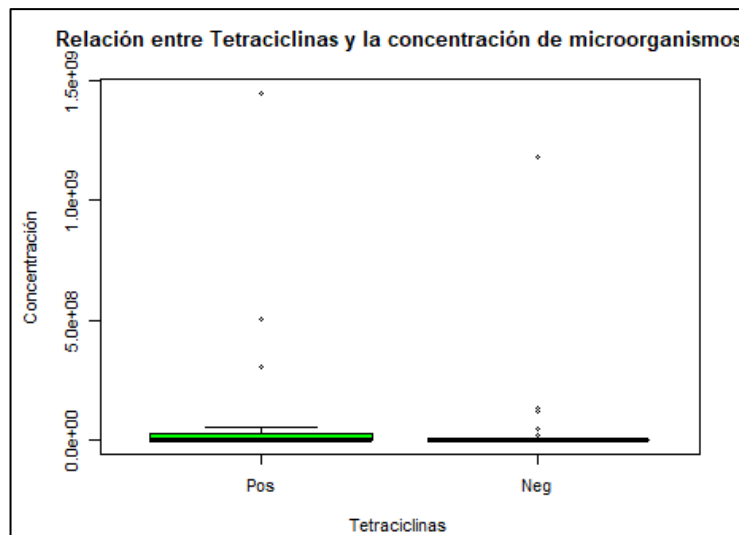


Figura 36. Resultados gráficos del R Studio sobre la relación entre la presencia o no de tetraciclinas[mg/l] y la concentración de microorganismos [UFC/ml].
Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

5.3.6 Relación Tiempo, UFC y Antibióticos (betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas):

Es importante considerar que la estimación de antibióticos y la cantidad de microorganismos encontradas durante los meses de estudio, posiblemente no se relacionen debido a que el ecosistema acuático muestreado es un sistema lótico, esto concuerda con lo descrito por el autor Carreño (2015) donde denomina a estos sistemas como ecosistemas ribereños en movimiento, que pueden ser corriente, cala, arroyo, río, manantial, canal o riada y sus características es que desde la fuente de la desembocadura tienen gases atmosféricos, turbidez, materiales disueltos, gradación de temperatura longitudinal, el autor Teixeira (2007) dice que estos sistemas se ajustan al ancho y profundidad de acuerdo a su caudal y la carga de sedimentos que transportan, por lo cual los cambios del suelo provocan alteraciones en la hidrogeología y geomorfología de los mismos, además de impactar a nivel físico, químico y biológico dañando la diversidad de hábitats y especies acuáticas.

5.3.6.1 Tiempo, UFC y Betalactámicos

Para esta relación de tiempo, UFC y Betalactámicos, se consideraron todos los puntos muestreados, excepto los del mes de abril donde no existió la presencia de UFC, por lo cual se encuentran únicamente los meses de mayo junio y agosto, los valores se detallan mejor en la Tabla 20.

Tabla 20. Concentraciones de Betalactámicos y valores de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de los betalactámicos.

PUNTOS	TIEMPO	MESES	UFC	B
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	agosto	0,00	6,96x10 ⁻¹
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	agosto	1,20x10 ⁸	1,51x10 ⁻¹
ADCP	9	junio	9,10x10 ³	3,76x10 ⁻²
ADCP	9	agosto	9,07x10 ²	3,27x10 ⁻²
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	junio	1,45x10 ⁹	2,15x10 ⁻²
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	mayo	0,00	1,87x10 ⁻²
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	mayo	6,50x10 ³	1,87x10 ⁻²
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	agosto	4,52x10 ³	1,87x10 ⁻²
ADCB	1	junio	9,10x10 ³	1,24x10 ⁻²
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	junio	1,18x10 ⁹	9,36x10 ⁻³
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	agosto	4,67x10 ⁷	9,36x10 ⁻³
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	agosto	5,17x10 ⁷	9,36x10 ⁻³
ADCM	5	agosto	1,58x10 ⁴	8,14x10 ⁻³
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	mayo	0,00	6,17x10 ⁻³
ADCM	5	mayo	4,90x10 ¹	6,17x10 ⁻³
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	mayo	0,00	6,17x10 ⁻³
ADCB	1	agosto	3,81x10 ³	6,17x10 ⁻³
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	mayo	1,55x10 ⁴	4,06x10 ⁻³
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	agosto	3,05x10 ⁸	2,68x10 ⁻³
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	junio	4,50x10 ³	2,33x10 ⁻³
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	mayo	7,80x10 ¹	2,03x10 ⁻³
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	junio	1,33x10 ⁸	2,03x10 ⁻³
ADCP	9	mayo	0,00	1,54x10 ⁻³
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	junio	2,19x10 ⁴	1,54x10 ⁻³
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	junio	1,33x10 ⁸	1,54x10 ⁻³
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	junio	4,50x10 ³	1,34x10 ⁻³
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	agosto	4,40x10 ³	1,16x10 ⁻³
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	mayo	6,00x10 ¹	1,01x10 ⁻³
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	agosto	2,19x10 ⁴	1,01x10 ⁻³
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	mayo	0,00	8,81x10 ⁻⁴
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	junio	1,45x10 ⁹	7,67x10 ⁻⁴
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	agosto	1,83x10 ⁷	7,67x10 ⁻⁴
ADCM	5	junio	8,80x10 ³	5,81x10 ⁻⁴
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	junio	5,05x10 ⁸	1,10x10 ⁻⁴
ADCB	1	mayo	1,18x10 ²	5,46x10 ⁻⁵
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	mayo	2,70x10 ¹	3,39x10 ⁻⁶

Elaborado por: Silva, A. 2019

Con los valores mostrados en la Tabla 20 sirve para elaborar un gráfico tridimensional en el programa R Studio, que permite evidenciar que las concentraciones de Betalactámicos son diferentes durante los meses de estudio, independientemente del valor de UFC que se hayan presentado en cada uno de los puntos del área de estudio. Es decir que los puntos ADCP₍₊₁₀₀₎, ARM₍₋₁₀₀₎ y ADCP en el mes de agosto y junio es donde se encontraron los valores más altos, con rangos que van desde $6,96 \times 10^{-1} [\text{mg/l}]$ a $3,76 \times 10^{-2} [\text{mg/l}]$, esto se indica en la Figura 37.

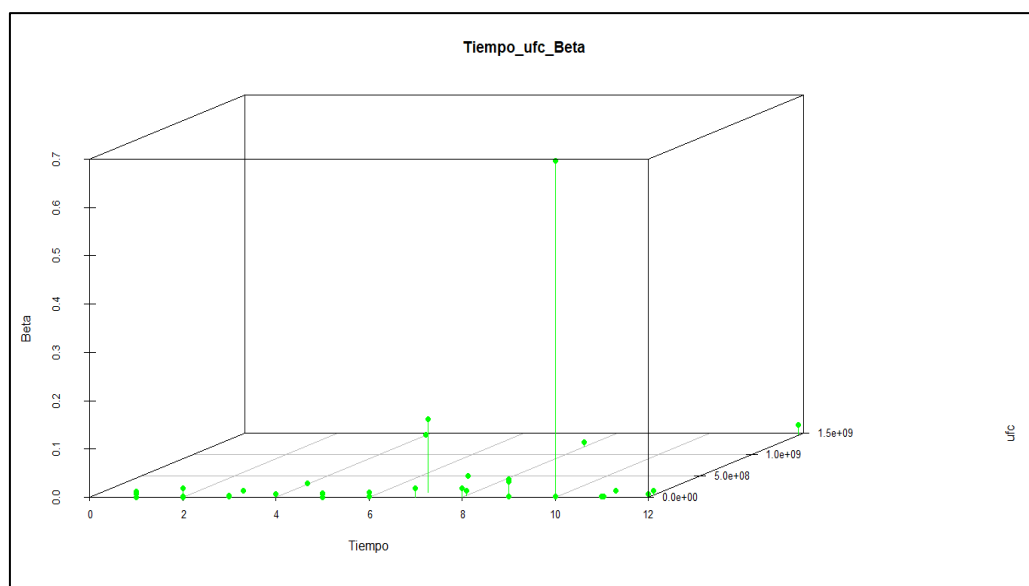


Figura 37. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo, valores de UFC y la concentración de betalactámicos dentro de los meses de estudio mayo junio y agosto, el mes de abril no se encuentra presente ya que no existió presencia de UFC. Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

5.3.6.2 Tiempo, UFC y Sulfamidas

Para esta relación de tiempo, UFC y sulfamidas, se consideraron todos los puntos muestreados, excepto los del mes de abril donde no existió la presencia de UFC, es por eso por lo que únicamente se encuentran los meses de mayo junio y agosto, los valores se detallan mejor en la Tabla 21.

Tabla 21. Concentraciones de Sulfamidas y de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de las sulfamidas.

PUNTOS	TIEMPO	MESES	UFC	S
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	agosto	0,00	2,22
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	agosto	1,20x10 ⁸	2,72x10 ⁻¹
ADCP	9	agosto	9,07x10 ²	1,88x10 ⁻²
ADCP	9	junio	9,10x10 ³	1,55x10 ⁻²
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	junio	1,45x10 ⁹	7,22x10 ⁻³
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	agosto	4,52x10 ³	5,96x10 ⁻³
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	mayo	0,00	4,93x10 ⁻³
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	mayo	6,50x10 ³	4,07x10 ⁻³
ADCB	1	junio	9,10x10 ³	4,07x10 ⁻³
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	junio	1,18x10 ⁹	2,78x10 ⁻³
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	agosto	5,17x10 ⁷	2,78x10 ⁻³
ADCM	5	agosto	1,58x10 ⁴	2,30x10 ⁻³
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	agosto	4,67x10 ⁷	2,30x10 ⁻³
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	mayo	0,00	1,57x10 ⁻³
ADCM	5	mayo	4,90x10 ¹	1,29x10 ⁻³
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	mayo	0,00	1,29x10 ⁻³
ADCB	1	agosto	3,81x10 ³	1,07x10 ⁻³
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	mayo	1,55x10 ⁴	4,11x10 ⁻⁴
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	mayo	7,80x10 ¹	2,32x10 ⁻⁴
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	junio	1,33x10 ⁸	2,32x10 ⁻⁴
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	agosto	3,05x10 ⁸	2,32x10 ⁻⁴
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	junio	4,50x10 ³	1,92x10 ⁻⁴
ADCP	9	mayo	0,00	1,58x10 ⁻⁴
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	junio	4,50x10 ³	1,58x10 ⁻⁴
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	junio	2,19x10 ⁴	1,58x10 ⁻⁴
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	agosto	2,19x10 ⁴	8,93x10 ⁻⁵
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	agosto	4,40x10 ³	7,37x10 ⁻⁵
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	mayo	2,70x10 ¹	6,09x10 ⁻⁵
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	mayo	6,00x10 ¹	6,09x10 ⁻⁵
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	mayo	0,00	6,09x10 ⁻⁵
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	junio	1,45x10 ⁹	5,03x10 ⁻⁵
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	agosto	1,83x10 ⁷	4,16x10 ⁻⁵
ADCM	5	junio	8,80x10 ³	3,43x10 ⁻⁵
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	junio	5,05x10 ⁸	2,87x10 ⁻⁶
ADCB	1	mayo	1,18x10 ²	7,53x10 ⁻⁷
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	junio	1,33x10 ⁸	0,00

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Con los valores mostrados en la Tabla 21 sirve para elaborar un gráfico tridimensional en el programa R Studio, que permite evidenciar que las concentraciones de sulfamidas son diferentes durante los meses de estudio, independientemente del valor de las UFC que se hayan presentado en cada uno

de los puntos del área de estudio. Es decir que los puntos ADCP(+100), ARM(-100) y ADCP en el mes de agosto fue donde se encontraron los valores más altos, esto coincide con los puntos y meses de los betalactámicos, la diferencia es la concentración de las sulfamidas que en estos meses fue desde 2,22 [mg/l] a $1,88 \times 10^{-2}$ [mg/l], esto se observa en la Figura 38.

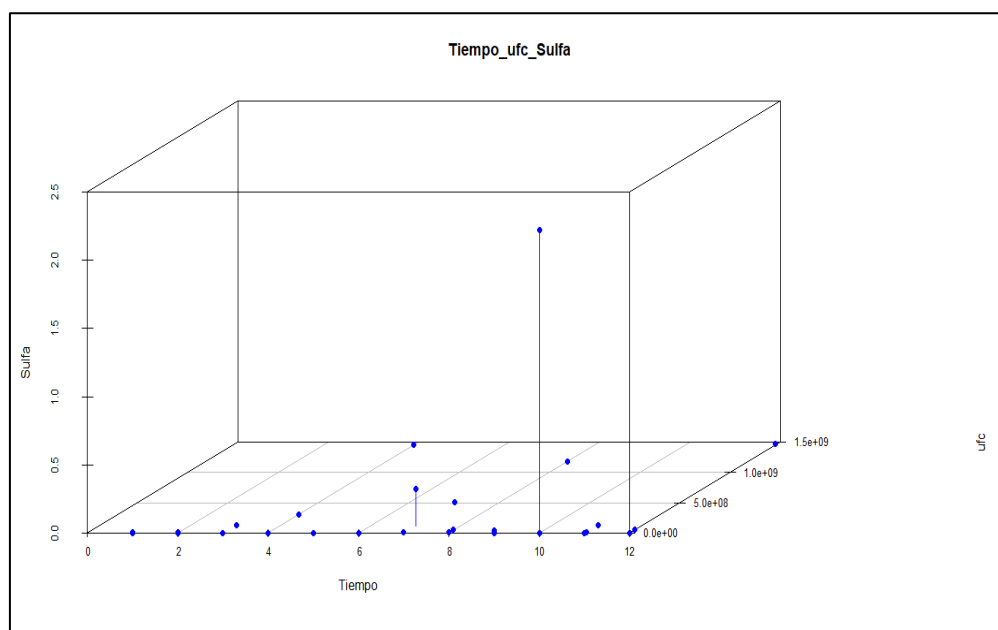


Figura 38. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo, valores de UFC y la concentración de sulfamidas dentro de los meses de estudio mayo junio y agosto, el mes de abril no se encuentra presente ya que no existió presencia de UFC.
Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

5.3.6.3 Tiempo, UFC y Tetraciclinas.

Para esta relación de tiempo, UFC y tetraciclinas, se consideraron todos los puntos muestreados, excepto los del mes de abril donde no existió la presencia de UFC, es por eso por lo que únicamente se encuentran los meses de mayo junio y agosto, los valores se detallan mejor en la Tabla 22.

Tabla 22. Concentraciones de Tetraciclinas y valores de UFC de los meses de mayo, junio y agosto del 2018. Valores ordenados de mayor a menor en función de las tetraciclinas.

PUNTOS	TIEMPO	MESES	UFC	T
ADCP	9	junio	9,10x10 ³	7,22x10 ⁻⁴
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	junio	1,45x10 ⁹	3,09x10 ⁻⁴
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	agosto	4,52x10 ³	2,50x10 ⁻⁴
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	mayo	6,50x10 ³	1,64x10 ⁻⁴
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	junio	1,18x10 ⁹	1,07x10 ⁻⁴
ADCB	1	agosto	3,81x10 ³	3,71x10 ⁻⁵
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	junio	4,50 x10 ³	3,00x10 ⁻⁵
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	mayo	1,55x10 ⁴	1,29x10 ⁻⁵
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	agosto	3,05x10 ⁸	6,81x10 ⁻⁶
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	junio	4,50x10 ³	5,51x10 ⁻⁶
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	junio	1,33x10 ⁸	3,61x10 ⁻⁶
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	agosto	2,19x10 ⁴	2,36x10 ⁻⁶
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	agosto	4,40x10 ³	1,91x10 ⁻⁶
ADCB ₍₊₁₀₀₎	2	mayo	2,70x10 ¹	1,54x10 ⁻⁶
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	mayo	6,00x10 ¹	1,54x10 ⁻⁶
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	junio	1,45x10 ⁹	1,25x10 ⁻⁶
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	agosto	1,83E+07	1,01x10 ⁻⁶
ADCM	5	junio	8,80x10 ³	8,18x10 ⁻⁷
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	junio	5,05x10 ⁸	5,19x10 ⁻⁸
ADCB	1	mayo	1,18x10 ²	1,18x10 ⁻⁸
ADCM	5	agosto	1,58x10 ⁴	1,30x10 ⁻¹¹
ARB ₍₊₁₀₀₎	4	mayo	0,00	0,00
ADCM	5	mayo	4,90x10 ¹	0,00
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	mayo	0,00	0,00
ADCP	9	mayo	0,00	0,00
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	mayo	7,80x10 ¹	0,00
ARP ₍₋₁₀₀₎	11	mayo	0,00	0,00
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	mayo	0,00	0,00
ADCB	1	junio	9,10x10 ³	0,00
ARB ₍₋₁₀₀₎	3	junio	1,33x10 ⁸	0,00
ADCM ₍₊₁₀₀₎	6	junio	2,19x10 ⁴	0,00
ARM ₍₋₁₀₀₎	7	agosto	1,20x10 ⁸	0,00
ARM ₍₊₁₀₀₎	8	agosto	4,67x10 ⁷	0,00
ADCP	9	agosto	9,07x10 ²	0,00
ADCP ₍₊₁₀₀₎	10	agosto	0,00	0,00
ARP ₍₊₁₀₀₎	12	agosto	5,17x10 ⁷	0,00

Elaborado por: Silva, A. 2019.

Con los valores mostrados en la Tabla 22 sirve para elaborar un gráfico tridimensional en el programa R Studio, que permite evidenciar que las concentraciones de tetraciclinas son bajas y varían durante los meses de

estudio, independientemente del valor de UFC que se hayan presentado en cada uno de los puntos del área de estudio. Las concentraciones más altas se dieron en el mes de junio y agosto principalmente en los puntos ADCP, ARP(+100) y ADCB(+100) con valores que van desde $3,28\text{E-}04$ a $2,50\text{E-}04$, esto se observa en la Figura 39.

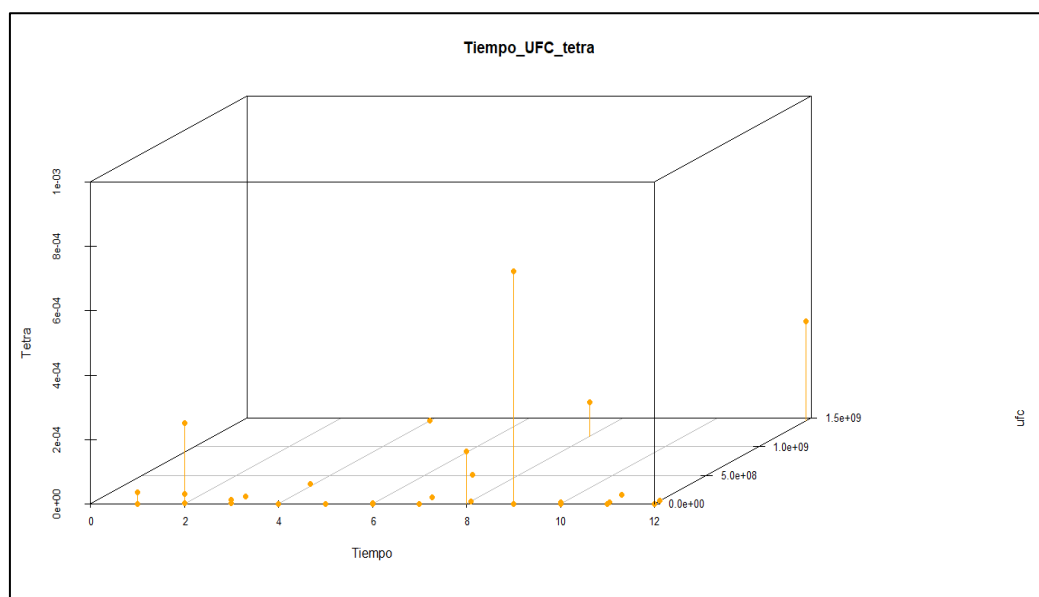


Figura 39. Gráfico tridimensional de R Studio sobre la relación entre el tiempo (mayo, junio y agosto), valores de UFC y la concentración de tetraciclinas de todos los puntos muestreados en el área de estudio.

Elaborado por: Silva, A. (Rstudio, 2019).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones:

Mediante el uso del Kit AuroFlow™ se detectó la presencia de antibióticos en los distintos puntos muestreados, tanto en el agua potable, como residual; además se realizó la estimación de las concentraciones de betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas, por medio de la elaboración de curvas de calibración para cada uno a través de imágenes ráster en el programa R studio. Este método alternativo, además de ser sencillo y rápido, hace que los costos disminuyan.

Los resultados de las muestras tomadas permitieron determinar las características fisicoquímicas los siguientes valores: En la zona de captación; Balsas: pH 7,68; POR -28,13[mV]; oxígeno disuelto 7,93[mg/l]; turbidez 1,06 [NTU]; temperatura 22,65 °C; microbiología del agua: $3,68 \times 10^3$ [UFC]. Marcabelí: pH 7,56; POR -19,79[mV]; oxígeno disuelto 7,87 [mg/l]; turbidez 2,45 [NTU]; temperatura 25,48 °C; microbiología del agua: $1,14 \times 10^4$ [UFC]. Piñas: pH 7,70; POR -28,54[mV]; oxígeno disuelto 7,93 [mg/l]; turbidez 0,77 [NTU]; temperatura 20,86 °C; microbiología del agua: $2,43 \times 10^3$ [UFC].

En la zona de descarga; Balsas: pH 7,55; POR -21,83 [mV]; oxígeno disuelto 6,53[mg/l]; turbidez 27,10 [NTU]; temperatura 24,76 °C; microbiología del agua: $3,14 \times 10^8$ [UFC]. Marcabelí: pH 7,37; POR -15,96 [mV]; oxígeno disuelto 6,95 [mg/l]; turbidez 6,04 [NTU]; temperatura 26,91 °C; microbiología del agua: $3,09 \times 10^8$ [UFC]. Piñas: pH 7,76; POR -33,50 [mV]; oxígeno disuelto 7,03[mg/l]; turbidez 17,40 [NTU]; temperatura 22,51°C; microbiología del agua: $2,75 \times 10^8$ [UFC]. Estos valores se obtuvieron del promedio de las muestras durante los meses de estudio.

La presencia de betalactámicos se encontró en todos los puntos muestreados, seguido de las sulfamidas que únicamente no se presentaron en el punto ARP₍₋₁₀₀₎ del río Piñas en los meses de abril y junio; finalmente las tetraciclinas se determinaron con menor presencia en el área de estudio.

Los resultados de las muestras tomadas nos permitieron cuantificar las siguientes concentraciones de antibióticos: En la zona de captación; Balsas: betalactámicos $8,41 \times 10^{-3}$ [mg/l]; tetraciclinas $5,32 \times 10^{-5}$ [mg/l]; sulfamidas $2,51 \times 10^{-3}$ [mg/l]. Marcabelí: betalactámicos $6,00 \times 10^{-2}$ [mg/l]; tetraciclinas $6,56 \times 10^{-3}$ [mg/l]; sulfamidas $7,39 \times 10^{-2}$ [mg/l]. Piñas: betalactámicos $9,68 \times 10^{-2}$ [mg/l]; tetraciclinas $1,83 \times 10^{-4}$; sulfamidas $2,82 \times 10^{-1}$ [mg/l]. Mientras que en la zona de descarga; Balsas: betalactámicos $2,51 \times 10^{-3}$ [mg/l]; tetraciclinas $4,88 \times 10^{-5}$ [mg/l]; sulfamidas $3,52 \times 10^{-4}$ [mg/l]. Marcabelí: betalactámicos $2,95 \times 10^{-2}$ [mg/l]; tetraciclinas $5,06 \times 10^{-4}$ [mg/l]; sulfamidas $3,63 \times 10^{-2}$ [mg/l]. Piñas: betalactámicos $5,65 \times 10^{-3}$ [mg/l]; tetraciclinas $6,60 \times 10^{-5}$ [mg/l]; sulfamidas $1,90 \times 10^{-3}$ [mg/l].

Concluimos que durante los cuatros meses de recolección de muestras, una por cada mes en los diferentes puntos en el agua para consumo humano y de las aguas residuales de los tres cantones, la mayor presencia de concentración residual de los tres antibióticos se dio en los meses de abril y junio.

6.2 Recomendaciones:

Es importante que se generen otros modelos alternativos en función de las imágenes ráster, no solo para antibióticos sino para los diferentes tipos de contaminantes emergentes que se encuentran presentes en el agua.

Es importante utilizar métodos altamente sensibles y selectivos que ayuden con la determinación específica de antibióticos y distintos tipos de contaminantes en niveles de concentración bajos en aguas superficiales.

Realizar campañas ambiental, principalmente a las personas que desarrollan actividades agrícolas, ganaderas y avícolas, cercanas a los principales cuerpos de agua, ya que cada vez se reportan daños a la microbiota y al ambiente.

Generar investigaciones y estudios que ayuden a determinar qué actividad es la que genera mayor contaminación dentro de los tres cantones, con el análisis de las diferentes épocas del año, además de variables como el cloro y metales pesados que pueden estar influenciando en la presencia de antibióticos en los diferentes cuerpos de agua de los tres cantones.

Este estudio es una pauta para que se continúe con más análisis que ayude a crear tratamientos sofisticados para el agua y minimizar el impacto a las que se ven expuestos los recursos hídricos de estos cantones, salvaguardando el bienestar de la población que utiliza estos recursos hídricos para la subsistencia diaria.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, R. (2014). Universidad Militar Nueva Granada. *Universidad Militar Nueva Granada*, 10(2), 1–48. <https://doi.org/10.18359/rfcb.1303>
- AGQ Labs Chile S.A. (2017). Análisis Químico, medir es comparar. *Área de Salud y Seguridad*, (figura 1), 1–6. Retrieved from <https://agqlabs.cl/wp-content/uploads/Analisis-quimico-medir-es-comparar.pdf>
- Anderson, E. S. (1968a). Drug Resistance in *Salmonella typhimurium* and its Implications. *British Medical Journal*, 3(5614), 333–339. <https://doi.org/10.1136/bmj.3.5614.333>
- Anderson, E. S. (1968b). Transferable antibiotic resistance. *British Medical Journal*, 1(March), 574–575. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1985220/?page=2>
- Andreozzi, R., Caprio, V., Marotta, R., & Radovnikovic, A. (2003). Ozonation and H₂O₂/UV treatment of clofibric acid in water: A kinetic investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 103(3), 233–246. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.07.001>
- Barceló, L. D., & López, J. (2012). Contaminación y calidad química del agua : el problema de los contaminantes emergentes.
- Becerril Bravo, J. E. (2009). Contaminantes emergentes en el agua. *Revista Digital Universitaria*, 10(8), 7. Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art54/int54.htm>
- Becerril Bravo, J. E. (2012). *Optimización de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes en aguas de abastecimiento y*

residuales.

Calles, J., Estévez, E., Ochoa, T., Izurieta, R., & Campaña, A. (2019). *Calidad del Agua en las Americas, Riesgos y Oportunidades*. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/331940115>

Carreño, H. (2015). *Contaminación por Coliformes totales y escherichia coli en ostiones (Crassostrea columbiensis), concesión de Manglares, Puerto Salinas-Golfo de Guayaquil-Ecuador*. Universidad de Guayaquil. Retrieved from [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39576/1/Tesis Carreño 2019.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39576/1/Tesis%20Carreño%202019.pdf)

Cevallos, H., & Vallejos, S. (2018). Evaluación del sistema de agua potable “Cochas la Merced” y propuesta de modelo de gestión, 9.

Chicaiza Ramírez, S. E., & Ramos López, A. D. (2018). Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15621>

Chinchihualpa, J. (2018). *Uso de SIG para determinar la vulnerabilidad de contaminación en acuíferos de La Yarada y Los Palos en Tacna*. Pontificia Universidad Católica del Perú. Retrieved from http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/12536/CHINCHIHUALPA_MARQUEZ_JORGE_USO_SIG_DETERMINAR.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Cocha, J. (2011). *Estado Actual de la Calidad Fisico-Química, Bacteriológica y Biológica del Agua de la Subcuenca del Río Yanuncay en dos Estaciones Clímáticas (Invierno y Verano) del Cantón Cuenca Provincia del Azuay-Ecuador*. Universidad del Azuay. Retrieved from

<http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/54/1/08495.pdf>

Cuñat, Z., & Ruiz, M. (2016). Ensayos de ecotoxicidad de los fármacos y efectos tóxicos en el medio ambiente: Revisión. *Revista de Toxicología*, 33(2), 108–119. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/919/91949104007.pdf>

Espinoza, M. (2018). *Determinación de residuos de sulfadiazina en leche cruda transportada por la Asociación de Transportistas de Leche Cruda (ASOLECRUM) del cantón Cayambe mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC)*. Universidad Central del Ecuador. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16932/1/T-UCE-0008-CQU-060.pdf>

García, E., Domenech, A., López, A., Oliver, A., & Ramírez, A. (2010). 2º de BIOLOGÍA PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA 2009 -20 10. Universidad de las Illes Balears. Retrieved from <https://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/micro2/practicas.pdf>

GEASIG. (n.d.). Mapa de isolíneas con ArcGIS | Tutoriales ArcGIS | GEASIG. Retrieved August 29, 2019, from <https://www.geasig.com/isolineas-con-arcgis/>

Giler Molina, J. M. (2018). *Aplicación de procesos oxidativos avanzados para la degradación de oxitetraciclina en soluciones acuosas*.

Gobierno Autónmo Descentralizado del cantón Piñas 2014 - 2019. (2015). Piñas - El Oro - Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Piñas - Rendición de Cuentas 2017. Retrieved March 22, 2019, from <http://pinas.gob.ec/canton/2015-07-03-03-59-40.html>

Gobierno Autonomo Descentralizado del cantón Balsas 2014-2019. (2012). Datos

Generales - Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Balsas.

Retrieved March 20, 2019, from <http://www.balsas.gob.ec/index.php/2013-01-03-17-04-40/datos-generales>

Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Marcabelí (2014-2019). (2018).

Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del cantón Marcabelí. Retrieved from <https://www.marcabeli.gob.ec/territorial/componente-territorial.html>

González-Pleiter, M., Gonzalo, S., Rodea-Palomares, I., Leganés, F., Rosal, R.,

Boltes, K., ... Fernández-Piñas, F. (2013). Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment. *Water Research*, 47(6), 2050–2064.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.020>

Guamán, C., & Noemi, E. (2019). *Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada*. Retrieved from

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17391/1/UPS-CT008305.pdf>

Hernández-Barrera, J. C., Angarita-Merchán, M., & Prada-Quiroga, C. F. (2017).

Impacto del uso de antimicrobianos en medicina veterinaria. *Ciencia y Agricultura*, 14(2), 27–38.

<https://doi.org/10.19053/01228420.v14.n2.2017.7146>

Herrera-Herrera, A. V., Hernández-Borges, J., Borges-Miquel, T. M., & Rodríguez-

Delgado, M. ángel. (2013). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of 25 sulfonamide and quinolone antibiotics in water samples.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 75, 130–137.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.11.026>

- Heuer, H., Krögerrecklenfort, E., Wellington, E. M. H., Egan, S., Van Elsas, J. D., Van Overbeek, L., ... Smalla, K. (2002). Gentamicin resistance genes in environmental bacteria: Prevalence and transfer. *FEMS Microbiology Ecology*, 42(2), 289–302. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(02\)00342-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(02)00342-2)
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., & Kratz, K. L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 225(1–2), 109–118. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00337-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00337-4)
- Instituto Superior de FP Sanitaria Claudio Galeno. (n.d.). Laboratorio Clínico y Biomédico: Obtención de la curva de calibración - FP Claudio Galeno. Retrieved August 4, 2019, from <https://www.fpclaudiogaleno.es/blog/laboratorio-clinico-y-biomedico-obtencion-de-la-curva-de-calibracion>
- Jara, M. (2007). Tetraciclinas: un modelo de resistencia antimicrobiana. *Avances En Ciencias Veterinarias*, 22(1–2), 49–55. <https://doi.org/10.5354/0719-5273.2007.915>
- Jiménez, C. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: Productos farmaceuticos. *Revista Lasallista de Investigacion*, 8(2), 143–153. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/695/69522607016.pdf>
- Jorgensen, S., & Halling- Sorensen, B. (2010). Drugs in the Environment. *Chemical & Engineering News*, 88(13), 23–24. <https://doi.org/10.1021/cen-v088n013.p023>
- Kümmerer, K. (2004). Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2), 311–320. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh325>

- Lara, F. J., del Olmo-Iruela, M., Cruces-Blanco, C., Quesada-Molina, C., & García-Campaña, A. M. (2012). Advances in the determination of β -lactam antibiotics by liquid chromatography. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 38, 52–66. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.020>
- Mäkelä, P. H., Lederberg, J., & Lederberg, E. M. (1962). Patterns of sexual recombination in enteric bacteria. *Genetics*, 47(October), 1427–1439. Retrieved from <https://www.genetics.org/content/genetics/47/10/1427.full.pdf>
- Marcó, L., Azario, R., Metzler, C., & García, M. del C. (2004). La turbidez como indicador básico de calidad de aguas potabilizadoras a partir de fuentes superficiales. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 4, 82, 72–82. Retrieved from [http://salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc510156890491c_Hig.Sanid.Ambient.4.72-82\(2004\).pdf](http://salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc510156890491c_Hig.Sanid.Ambient.4.72-82(2004).pdf)
- Marín, M., & Gudiol, F. (2003). Betalactam antibiotics. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21(1), 42–55. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(03\)72873-0](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(03)72873-0)
- Martinez, S. (2016). CFU Scope by Medixgraph Inc. Retrieved June 22, 2019, from <https://www.thebiologistapprentice.com/blog/cfu-scope-by-medixgraph-inc>
- Máttar, S., Calderón, A., Sotelo, D., & Sierra, M. (2009). Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública, 11(4), 579–590.
- Mendoza, E. (2019). *Manejo Práctico de los Antibióticos*. Mexico DF: Science Hall. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?id=mWydDwAAQBAJ&pg=PT297&dq=Traciclina+resistencia+bacteriana&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwiY_aaRw_zi

AhXC1lkKHZdFBG8Q6AEIODAC#v=onepage&q=Tetraciclinas resistencia bacteriana&f=false

Millanao, A., Barrientos, M., Gómez, C., Tomova, A., Buschmann, A., Dolz, H., & Cabello, F. (2011). Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: Salud pública y salmonicultura en Chile. *Revista Médica de Chile*, 139(1), 107–118.
<https://doi.org/10.4067/S0034-98872011000100015>

Mompelat, S., Bot, B. Le, & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products , from resource to drinking water. *Environment International*, 35(5), 803–814.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008>

Montes de Campo, N. (2015). *Eliminación de contaminantes (antibióticos) en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Universidad de León. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales*. Retrieved from
<http://eds.a.ebscohost.com/eds/detail/detail?vid=11&sid=20e3df98-1afa-479a-b330-0a8cabe74eee%40sessionmgr4006&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3D%3D#AN=edsbas.ftunivrioja.oai.dialnet.unirioja.es.TES0000017620&db=edsbas%0Ahttps://dialnet.unirioja.es/se>

Motta, R., Gamarra, G., Benavides, E., & Roque, M. (2009). Detección de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el Callao. *Ciencia e Investigación*, 12(2), 79–82.

Pérez, R., & Pacheco, J. (2004). Vulnerabilidad del agua subterránea a la contaminación de nitratos en el estado de Yucatán. *Ingeniería*, 8(1), 33–42.

Petrović, M., Gonzalez, S., & Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging

- contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 685–696. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01105-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01105-1)
- Rivera, N. R., Encina, F., Muñoz-Pedrerros, A., & Mejias, P. (2004). La Calidad de las Aguas en los Ríos Cautín e Imperial, IX Región-Chile. *Información Tecnológica*, 15(5), 89–101. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642004000500013>
- Rodríguez, S., Gauna, L., Martínez, G., Acevedo, H., & Romero, C. (2012). Relación del nitrato sobre la contaminación bacteriana del agua. *Terra Latinoamericana*, 30(2), 111–119. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792012000200111&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Roig, J. (2014). *Eliminación de Contaminantes emergentes mediante Humedales Artificiales como sistema alternativo o complementario a un tratamiento de aguas convencional*. Universidad Politécnia de Valencia. Universidad Politénica de Valencia. <https://doi.org/10.1192/bjp.112.483.211-a>
- RStudio. (2018). RStudio Version 1.2.1335. *Mozilla/5.0 (Windows NT 6.2; WOW64) AppleWebKit/538.1 (KHTML, like Gecko) Rstudio Safari/538.1 Qt/5.4.1*.
- Salazar, Vadia G.; Viteri, Ernesto C.; Suarez, L. A. (2018). Características Físicas , Químicas y Microbiológicas del agua de consumo en las comunidades de Barcelona , Sinchal , Valdivia y San Pedro de la Parroquia Manglaralto . Provincia de Santa Elena , 2013. *Revista Científica de Investigacion Actualizacion Del Mundo de Las Ciencias.*, 2, 690–713. <https://doi.org/10.26820/reciamuc/2.1.2018.690-713>
- Sánchez, P., Raso, S., Torrecillas, C., MELLADO, I., ÑANCUFIL, A., OYARZO,

- C. M., ... BASUALDO, J. A. (2003). Contaminación biológica con heces caninas y parásitos intestinales en espacios públicos urbanos en dos ciudades de la Provincia del Chubut: Patagonia Argentina. *Parasitología Latinoamericana*, 58(3–4), 131–135. <https://doi.org/10.4067/S0717-77122003000300008>
- Scientific, B. (2018). AuroFlow™ BTS Combo Strip Test Kit. PerkinElmer Company. © Copyright 2018 Bioo Scientific Corporation. 7050 Burleson Road, Austin TX, 78744 | 1-888-208-2246. Retrieved from <http://www.biooscientific.com/Products-Services/Food-and-Feed-Products/AuroFlow-BTS-Combo-Strip-Test-Kit>
- Sisalima, R. (2009). *Detección de residuos de antibióticos en leche cruda fluida en la Parroquia Chicaña del cantón Yantzaza de la provincia de Zamora Chinchipe*. Retrieved from [http://192.188.49.17/jspui/bitstream/123456789/17157/1/Byron Fabián Ochoa Trelles.pdf](http://192.188.49.17/jspui/bitstream/123456789/17157/1/Byron%20Fabi%C3%A1n%20Ochoa%20Trelles.pdf)
- Suárez, C., & Gudíol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos Beta-lactam Antibiotics Introducció n, 27(2), 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Teixeira, F. (2007). *Efecto del uso del suelo sobre la calidad del agua y las comunidades de peces en sistemas lóticos de la cuenca baja del río Santa Lucía (Uruguay)*. *The British Journal of Psychiatry*. Universidad de la República. <https://doi.org/10.1192/bjp.112.483.211-a>
- Torres, R. (2015). Determinación de niveles de tetraciclina y oxitetraciclina en leche cruda en la asociación copla (corporación productora de leche de Alóag) de la parroquia Alóag del cantón Mejía, 99.

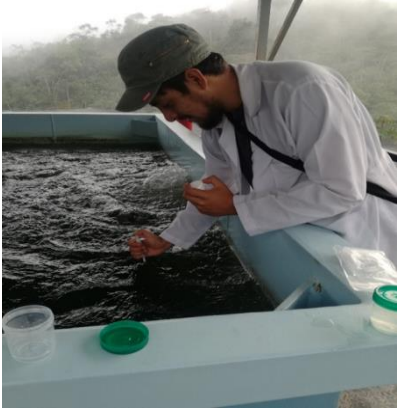



USGS. (2016). Drinking Water Exposure to Chemical and Pathogenic Contaminants: Emerging Contaminants. Retrieved September 9, 2019, from https://archive.usgs.gov/archive/sites/health.usgs.gov/dw_contaminants/emc.html





WWAP (Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas). (2017). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas Residuales: El recurso no explotado. El Abreguense* (UNESCO, Vol. 3). París. Retrieved from http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Bagnati, R., Reitano, G., & Calamari, D. (2004). Risks Related to the Discharge of Pharmaceuticals in the Environment: Further Research Is Needed. *Pharmaceuticals in the Environment*, 431–437. https://doi.org/10.1007/978-3-662-09259-0_31

8. ANEXOS

Anexo 1: Toma de muestras, medición y conservación

Imagen	Descripción
	<p>Foto 1. Muestreo 1: Planta Potabilización Santa Elena, aguas provenientes de la zona de Captación de la quebrada Santa Elena, Cantón Balsas</p>
	<p>Foto 2. Muestreo 1: 100 metros después de la planta de Potabilización Santa Elena, muestra de Agua Potable, Cantón Balsas</p>
	<p>Foto 3. Muestreo 1: 100 metros antes del camal municipal, descarga de Aguas Residual, quebrada Santa Elena, Cantón Balsas</p>
	<p>Foto 4. Muestreo 1: 100 metros después del camal municipal, descarga de Aguas Residual, quebrada Santa Elena, Cantón Balsas</p>

	<p>Foto 5. Muestreo 2: zona de Captación del Porvenir, quebrada El Caucho, Cantón Marcabelí</p>
	<p>Foto 6. Muestreo 1: Centro de la ciudad, muestra de Agua Potable, Cantón Marcabelí</p>
	<p>Foto 7. Muestreo 1: 100 metros antes del camal municipal, descarga de Aguas Residual, quebrada El Caucho, Cantón Marcabelí</p>
	<p>Foto 8. Muestreo 1: 100 metros después del camal municipal, descarga de Aguas Residual, río Marcabelí, Cantón Marcabelí</p>

	<p>Foto 9. Muestreo 1: Planta de Potabilización Piñas Grande, tanque reservorio donde llegan las aguas provenientes de las zonas de captación 7 vertientes (quebradas Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, El Palmal, La Chiral y las Chontas), cantón Piñas</p>
	<p>Foto 10. Muestreo 1: Mercado Municipal, muestra de Agua Potable, Cantón Piñas</p>
	<p>Foto 11. Muestreo 1: 100 metros antes del camal municipal, descarga de Aguas Residual, río Piñas, Cantón Piñas</p>



Foto 11. Muestreo 1: 100 metros
después del camal municipal,
descarga de Aguas Residual, río
Piñas, Cantón Piñas

Anexo 2: Equipos e instrumentos utilizados en campo.



Foto 1: Kit AuroFlow™ contiene la micropipeta 2µm, tiras de análisis y reactivos para detección betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas.



Foto 2: Tira de Análisis del Kit AuroFlow™.



Foto 3: pH- metro marca Mettler Toledo SevenGo.



Foto 4: -oxidímetro marca Mettler Toledo Seven2Go.



Foto 5: -Turbidímetro marca Orbeco TB200

Anexo 3: Procedimiento de como ocupar el kit Auro Flow.



Anexo 4: Composición del Agar MacConkey y PCA utilizado para la siembra de los microorganismos.

Agar MacConkey, composición:

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Lactosa.....	10,0 g	Peptona (carne y caseína)	3,0 g
Sales Biliares.....	1,5 g	Peptona de Gelatina.....	17,0 g
Rojo Neutro.....	0,03 g	Sodio Cloruro.....	5,0 g
Violeta Cristal.....	0,001 g	Agar.....	13,5 g

pH final: 7,1±0,2 (Chicaiza Ramírez & Ramos López, 2018).

Agar PCA, composición:

Fórmula (por litro)

Extracto de Levadura	2,5 g
D (+)-Glucosa	1,0 g
Triptona.....	5,0g
Agar.....	15,0 g

pH final: 7,0±0,2 (Chicaiza Ramírez & Ramos López, 2018).

Anexo 5: Materiales y Procedimiento de Laboratorio



Foto 1: Agar MacConkey y Agar PCA.



Foto 2: Cajas Petri y Vasos Orbeco

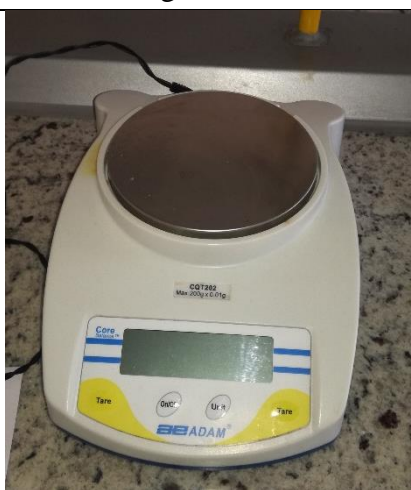


Foto 3: Balanza Electrónica.



Foto 4: Goteros para el método de la placa pobre en la siembra de bacterias



Foto 5: Varillas y Pastillas de Agitación



Foto 6: Pesaje de cada uno de los Agares



Foto 7: Agar PCA en la plancha de calentamiento



Foto 8: Agar MacConkey en la plancha de calentamiento

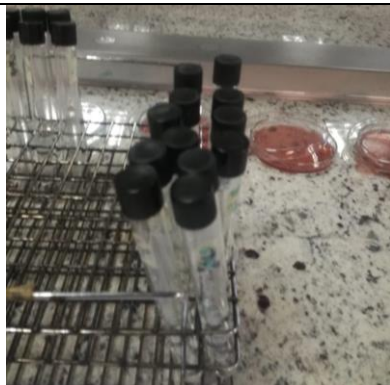


Foto 9: Diluciones 10^{-1} ; 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} 10^{-6} antes de ser vertida en las cajas Petri con los diferentes Agar.

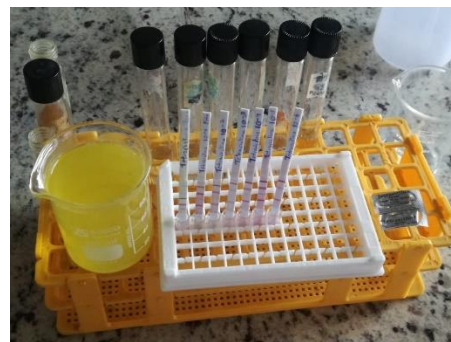








Foto 10: Prueba Blanco Tetraciclina.



Anexo 6: Imágenes de los resultados positivos de los cultivos y siembras de las captaciones, ríos, quebradas (meses de mayo, junio y agosto).


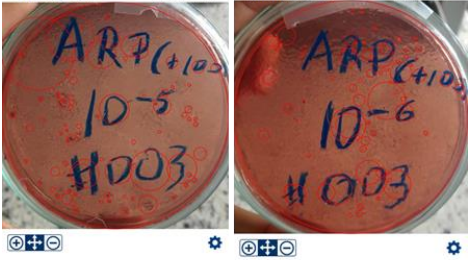


Imagen	Descripción
 <p>Count: 78</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 20/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ADCP₍₊₁₀₀₎, sin dilución</p> <p>Agua Potable</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 118</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB, sin dilución</p> <p>Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 27</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB₍₊₁₀₀₎, sin dilución</p> <p>Quebrada Santa Elena.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>





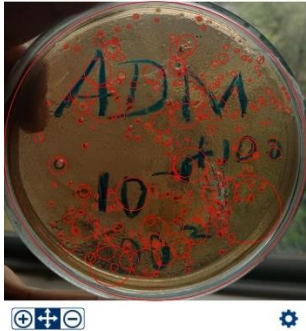
 <p>Count: 31</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondientes a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ARB₍₊₁₀₀₎, con dilución de 10⁻²</p> <p>Quebrada Santa Elena.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 49</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM, sin dilución.</p> <p>Quebrada El Caucho</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 60</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM₍₊₁₀₀₎, sin dilución</p> <p>Quebrada Caucho</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

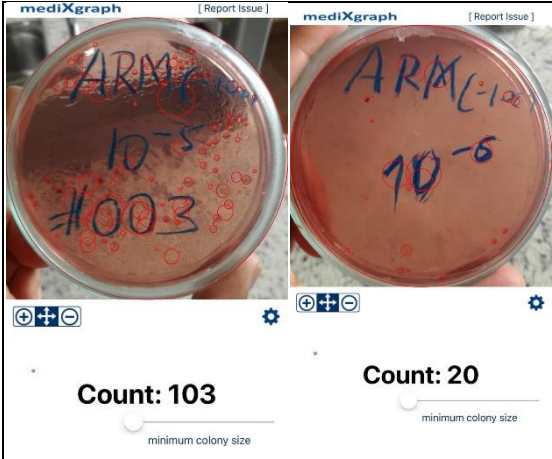

 <p>Count: 13</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 19/05/2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>Punto ARM₍₊₁₀₀₎, con dilución de 10⁻²</p> <p>Río Marcabelí.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
---	--

Cultivos y Siembras del mes de Junio:

Imagen	Descripción
 <p>Count: 160</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 15/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCP, con dilución 10⁻¹</p> <p>Zona de Captación 7 Vertientes.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 54</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 15/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCP₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻¹</p> <p>Agua Potable.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>




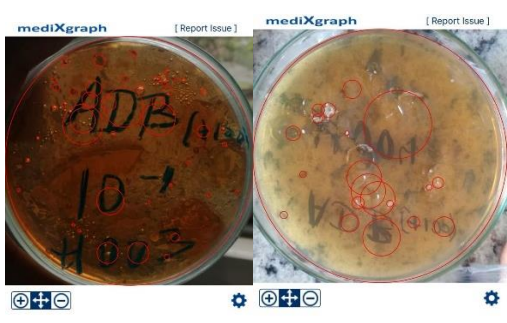
 <p>Count: 117 Count: 46</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 15/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARP₍₋₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵ y 10⁻⁶</p> <p>Río Piñas</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 82 Count: 73</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 15/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARP₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵ y 10⁻⁶</p> <p>Río Piñas</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 91</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB, con dilución 10⁻¹</p> <p>Captación Quebrada Santa Elena.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 45</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻¹</p> <p>Agua Potable, Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>



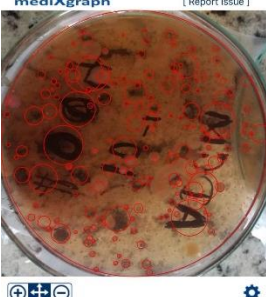
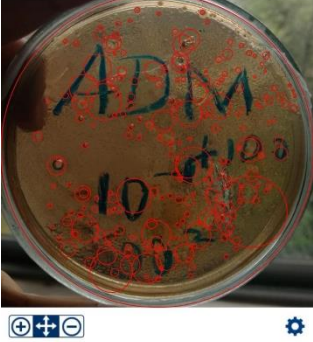
 <p>Count: 80</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARB₍₋₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵</p> <p>Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 78</p> <p>minimum colony size</p>  <p>Count: 79</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARB₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵ y 10⁻⁶</p> <p>Quebrada Santa Elena.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 88</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM, con dilución 10⁻¹</p> <p>Zona de Captación, Quebrada Caucho.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC</p>
 <p>Count: 219</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻¹</p> <p>Agua Potable, Quebrada Caucho.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>



	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARM₍₋₁₀₀₎, con dilución 10^{-5} y 10^{-6}</p> <p>Quebrada Caucho.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
	<p>Imagen correspondiente a la fecha 14/06/2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>Punto ARM₍₊₁₀₀₎, con dilución 10^{-6}</p> <p>Río Marcabelí.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

Cultivos y Siembras del mes de Agosto:


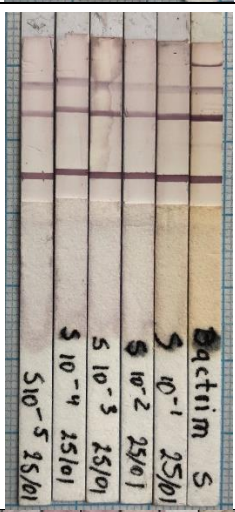

Imagen	Descripción
	<p>Imágenes correspondiente a la fecha 03/08/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ADCP, sin dilución 10^0 y con dilución 10^{-1}</p> <p>Zona de Captación 7 Vertientes.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

 <p>Count: 11</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 03/08/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARP₍₋₁₀₀₎, con dilución 10^{-5}</p> <p>Río Piñas</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 31</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 03/08/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARP₍₊₁₀₀₎, con dilución 10^{-5} y 10^{-6}</p> <p>Río Piñas</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 213 Count: 36</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 04/08/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB, sin dilución y con dilución 10^{-1}</p> <p>Zona Captación Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 45 Count: 20</p>	<p>Imágenes correspondientes a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ADCB, sin dilución y con dilución 10^{-1}</p> <p>Agua potable, Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

 <p>Count: 44</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARB₍₋₁₀₀₎, con dilución 10^{-1}</p> <p>Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 183</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARB₍₊₁₀₀₎, con dilución 10^{-5}</p> <p>Quebrada Santa Elena</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 158</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM, con dilución 10^{-1}</p> <p>Zona de Captación, Quebrada Caucho.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC</p>
 <p>Count: 219</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ADCM₍₊₁₀₀₎, con dilución 10^{-1}</p> <p>Agua Potable, Quebrada Caucho.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

 <p>Count: 72</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARM₍₋₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵</p> <p>Quebrada Caucho</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>
 <p>Count: 28</p> <p>minimum colony size</p>	<p>Imagen correspondiente a la fecha 04/06/2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>Punto ARM₍₊₁₀₀₎, con dilución 10⁻⁵</p> <p>Río Marcabelí.</p> <p>Aplicación MediXgraph conteo de UFC.</p>

Anexo 7: Imágenes de las tiras para el análisis con el Programa R studio para determinar la muestra en blanco para la curva de calibración.

Imagen	Descripción
 <p>Amoxi β</p> <p>β 10⁻¹ 25/01</p> <p>β 10⁻² 25/01</p> <p>β 10⁻³ 25/01</p> <p>β 10⁻⁴ 25/01</p> <p>β 10⁻⁵ 25/01</p>	<p>Foto 1: Imagen correspondientes al blanco de los betalactámicos</p> <p>De derecha a izquierda: la diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹ y la muestra directamente sin dilución.</p>
 <p>Bactim S</p> <p>S 10⁻¹ 25/01</p> <p>S 10⁻² 25/01</p> <p>S 10⁻³ 25/01</p> <p>S 10⁻⁴ 25/01</p> <p>S 10⁻⁵ 25/01</p>	<p>Foto 2: Imagen correspondientes al blanco de las sulfamidas</p> <p>De derecha a izquierda: la diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹ y la muestra directamente sin dilución.</p>
 <p>Tetraciclina 10⁻¹ Foto</p> <p>Tetraciclina 10⁻²</p> <p>Tetraciclina 10⁻³</p> <p>Tetraciclina 10⁻⁴</p> <p>Tetraciclina 10⁻⁵</p> <p>Tetraciclina 10⁻⁶</p>	<p>Foto 3: Imagen correspondientes al blanco de las tetraciclinas</p> <p>De derecha a izquierda: la diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹ y la muestra directamente sin dilución.</p>

Anexo 8: Datos de la programación y análisis de la muestra “blanco” para determinación de la curva de calibración y estimación de la concentración de antibióticos.

```

1 R0<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ACB_(+100).jpg",band=3)
2 G0<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ACB_(+100).jpg",band=2)
3 B0<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ACB_(+100).jpg",band=1)
4
5 hist(B0,maxpixels=1000000000)
6 hist(G0,maxpixels=1000000000)
7 hist(R0,maxpixels=1000000000)
8
9 R1<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ADCB.jpg",band=3)
10 G1<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ADCB.jpg",band=2)
11 B1<-raster("C:/Users/asilv/Documents/TESIS/RECORTE_TIRAS_ANALISIS/MUESTREO_1/BALSAS/ADCB.jpg",band=1)
12
13 hist(B1,maxpixels=1000000000)
14 hist(G1,maxpixels=1000000000)
15 hist(R1,maxpixels=1000000000)
16



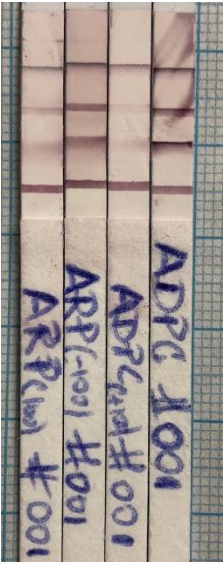
```

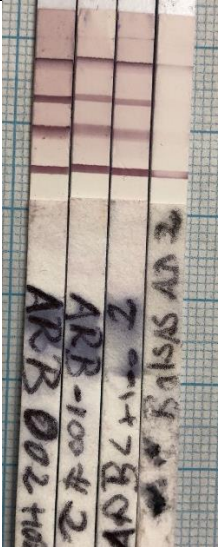
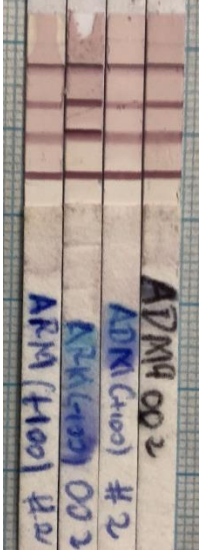
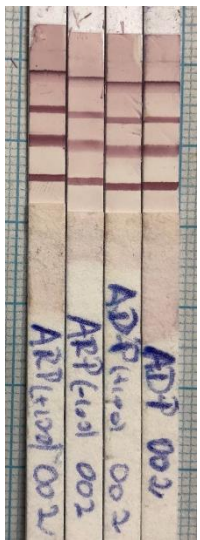
> summary(G0)		> summary(R0)		> summary(B0)	
	ACB_. .100.		ACB_. .100.		ACB_. .100.
Min.	30	Min.	26	Min.	59
1st Qu.	184	1st Qu.	171	1st Qu.	206
Median	192	Median	178	Median	213
3rd Qu.	197	3rd Qu.	182	3rd Qu.	216
Max.	242	Max.	224	Max.	255
NA's	0	NA's	0	NA's	0

Resultados de programación en R studio, presentando los datos estadísticos de los cuales solo se toma el valor de la media.




Elaborado por: Silva A. (R studio 2019)

Anexo 9: Imágenes de las tiras para el análisis en el programa R studio para determinar la cantidad de residuos en los puntos de muestreo de los 3 cantones.

Imagen	Descripción
	<p>Foto 1. Imágenes correspondientes a la 30 de abril del 2018</p> <p>1er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCB zona de Captación quebrada Santa Elena; ADCB₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada Santa Elena; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal quebrada Santa Elena;</p> <p>ARB₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada Santa Elena</p>
	<p>Foto 2. Imágenes correspondientes a la 30 de abril del 2018</p> <p>1er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCM zona de Captación quebrada El Caucho ; ADCM₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada El Caucho; ARM₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada El Caucho;</p> <p>ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Marcabelí.</p>
	<p>Foto 3. Imágenes correspondientes a la 29 de abril del 2018</p> <p>1er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCP zonas de Captación 7 Vertientes (Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, además las quebradas El Palmal, La Chiral y Las Chontas) ; ADCP₍₊₁₀₀₎ Agua Potable 7 Vertientes; ARP₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal río Piñas; ARP₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Piñas</p>

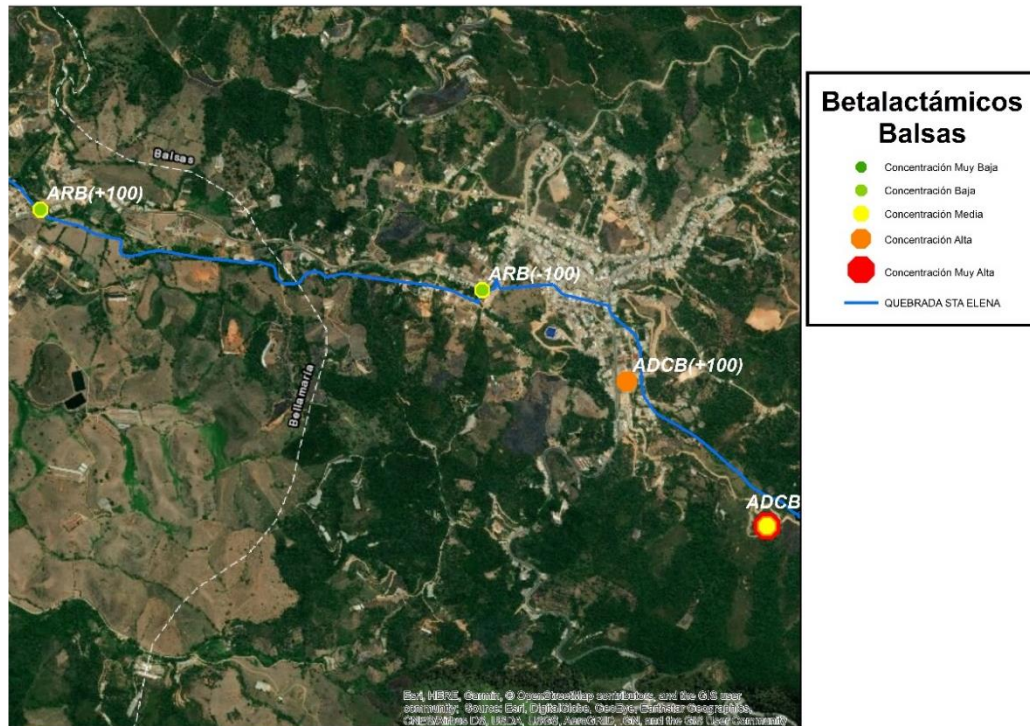
	<p>Foto 4. Imágenes correspondientes a la 19 de mayo del 2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCB zona de Captación quebrada Santa Elena; ADCB₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada Santa Elena; ARB₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada Santa Elena; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal quebrada Santa Elena</p>
	<p>Foto 5. Imágenes correspondientes a la 19 de mayo del 2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCM zona de Captación quebrada El Caucho; ADCM₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada El Caucho; ARM₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada El Caucho; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Marcabelí.</p>
	<p>Foto 6. Imágenes correspondientes a la 20 de mayo del 2018</p> <p>2do. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCP zonas de Captación 7 Vertientes (Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, además las quebradas El Palmal, La Chiral y Las Chontas) ; ADCP₍₊₁₀₀₎ Agua Potable 7 Vertientes; ARP₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal río Piñas; ARP₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Piñas</p>

	<p>Foto 7. Imágenes correspondientes a la 14 de junio del 2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCB zona de Captación quebrada Santa Elena; ADCB₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada Santa Elena; ARB₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada Santa Elena; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal quebrada Santa Elena</p>
	<p>Foto 8. Imágenes correspondientes a la 14 de junio del 2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCM zona de Captación quebrada El Caucho; ADCM₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada El Caucho; ARM₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada El Caucho; ARM₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Marcabelí.</p>
	<p>Foto 9. Imágenes correspondientes a la 15 de junio del 2018</p> <p>3er. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCP zonas de Captación 7 Vertientes (Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, además las quebradas El Palmar, La Chiral y Las Chontas); ADCP₍₊₁₀₀₎ Agua Potable 7 Vertientes; ARP₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal río Piñas; ARP₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Piñas</p>

	<p>Foto 10. Imágenes correspondientes a la 4 de agosto del 2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCB zona de Captación quebrada Santa Elena; ADCB₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada Santa Elena; ARB₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada Santa Elena; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal quebrada Santa Elena</p>
	<p>Foto 11. Imágenes correspondientes a la 4 de agosto del 2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCM zona de Captación quebrada El Caucho; ADCM₍₊₁₀₀₎ Agua Potable quebrada El Caucho; ARM₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal quebrada El Caucho; ARB₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Marcabelí.</p>
	<p>Foto 12. Imágenes correspondientes a la 3 de agosto del 2018</p> <p>4to. Muestreo.</p> <p>De derecha a izquierda: muestras para los puntos: ADCP zonas de Captación 7 Vertientes (Honda 1, Honda 2, Honda 3 y Honda, además las quebradas El Palmal, La Chiral y Las Chontas) ; ADCP₍₊₁₀₀₎ Agua Potable 7 Vertientes; ARP₍₋₁₀₀₎ Agua Residual 100 antes del camal río Piñas; ARP₍₊₁₀₀₎ Agua Residual 100 después del camal río Piñas</p>

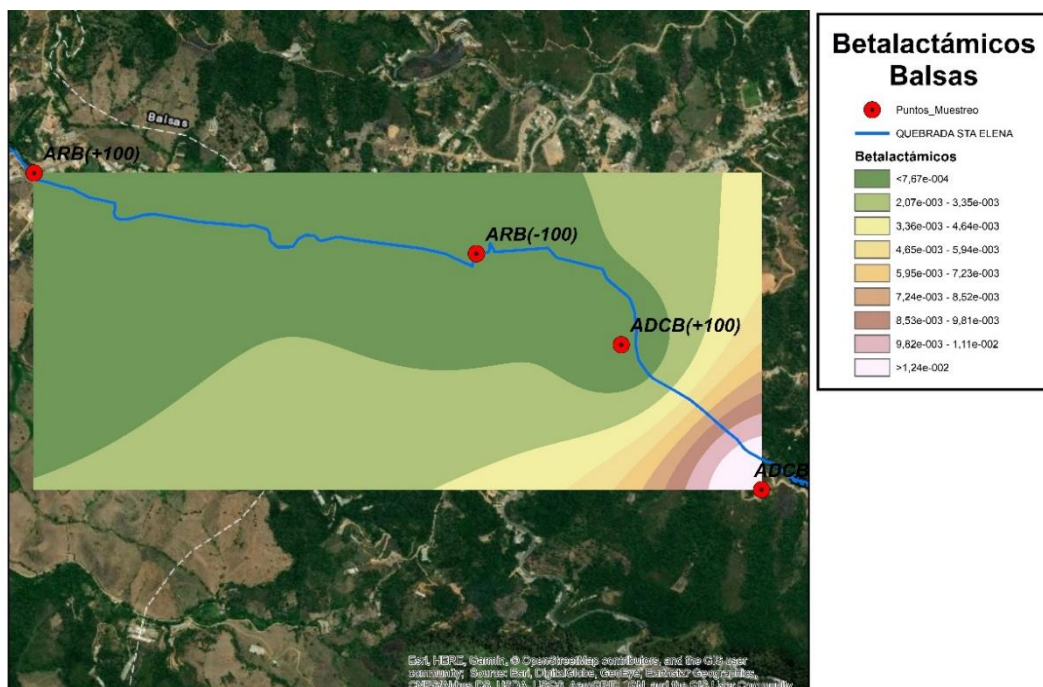
Mapas Ilustrativos con el comportamiento de los antibióticos en los distintos puntos determinados en el área de estudio Balsas Marcabelí y Piñas.

Anexo 10 : Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



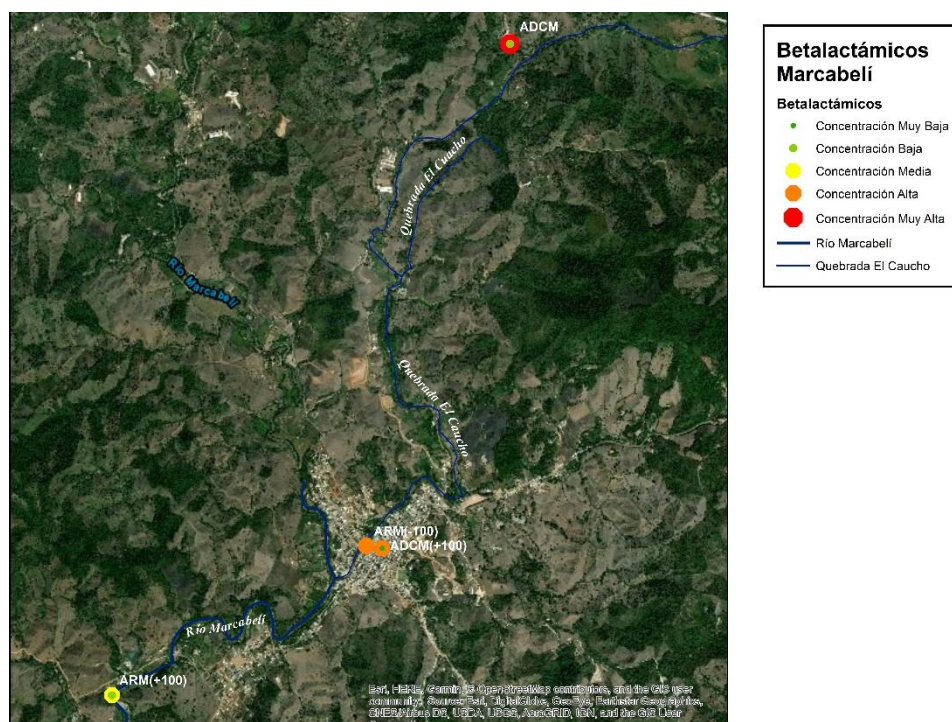
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 11: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



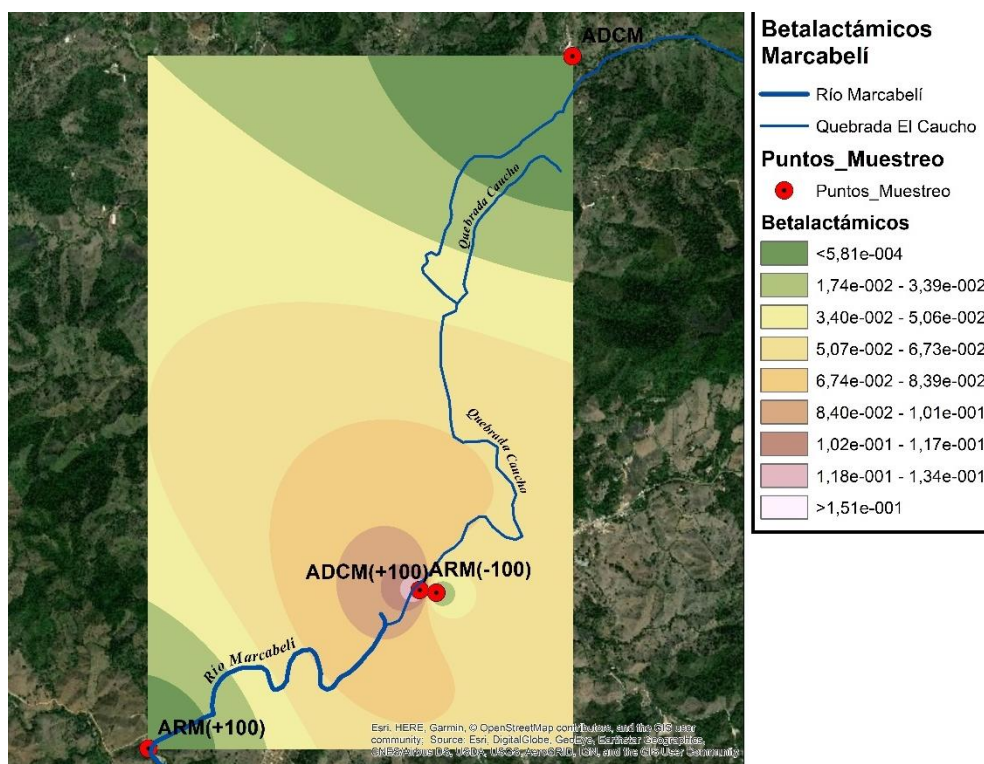
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 12: Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



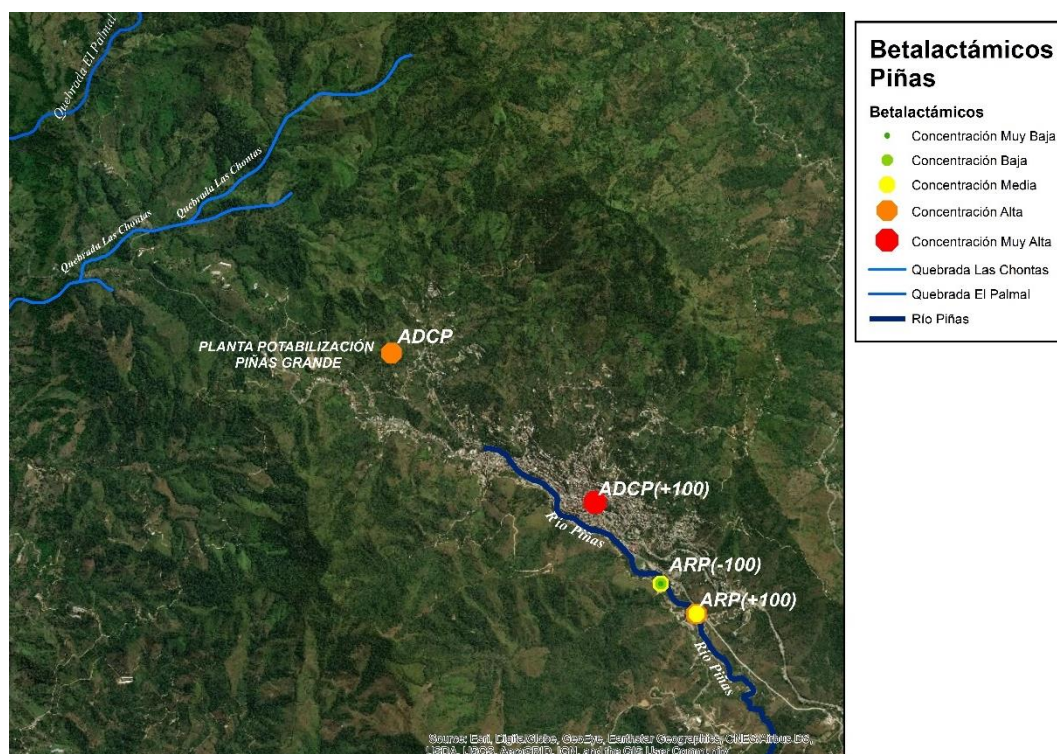
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 13: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



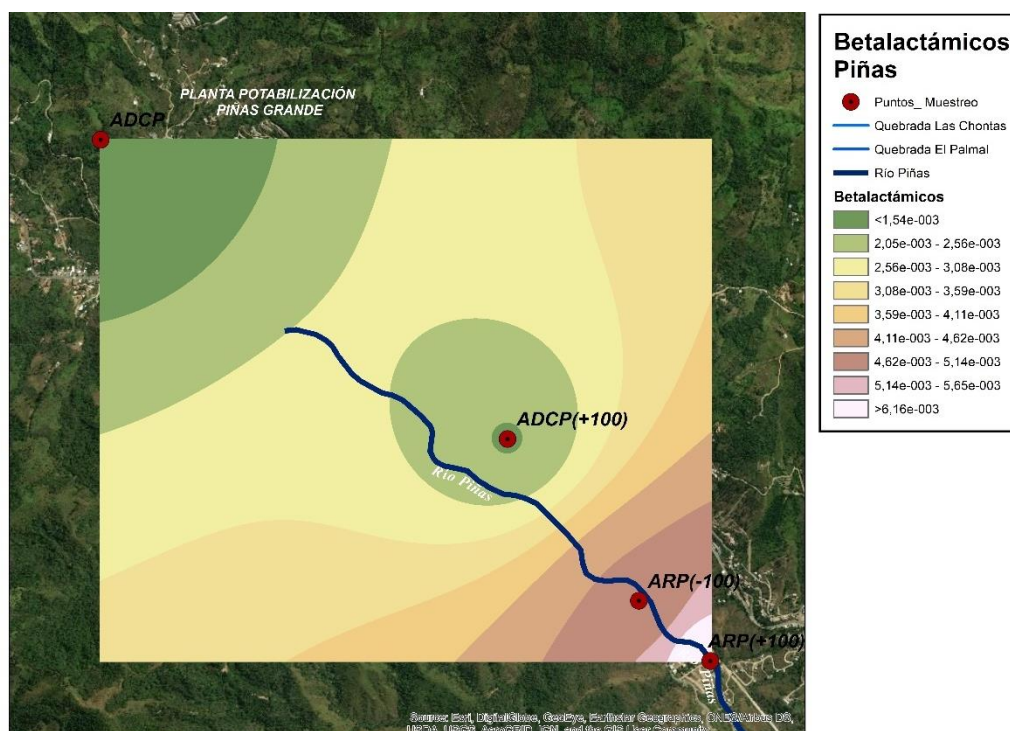
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 14: Condición de la determinación de los betalactámicos en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



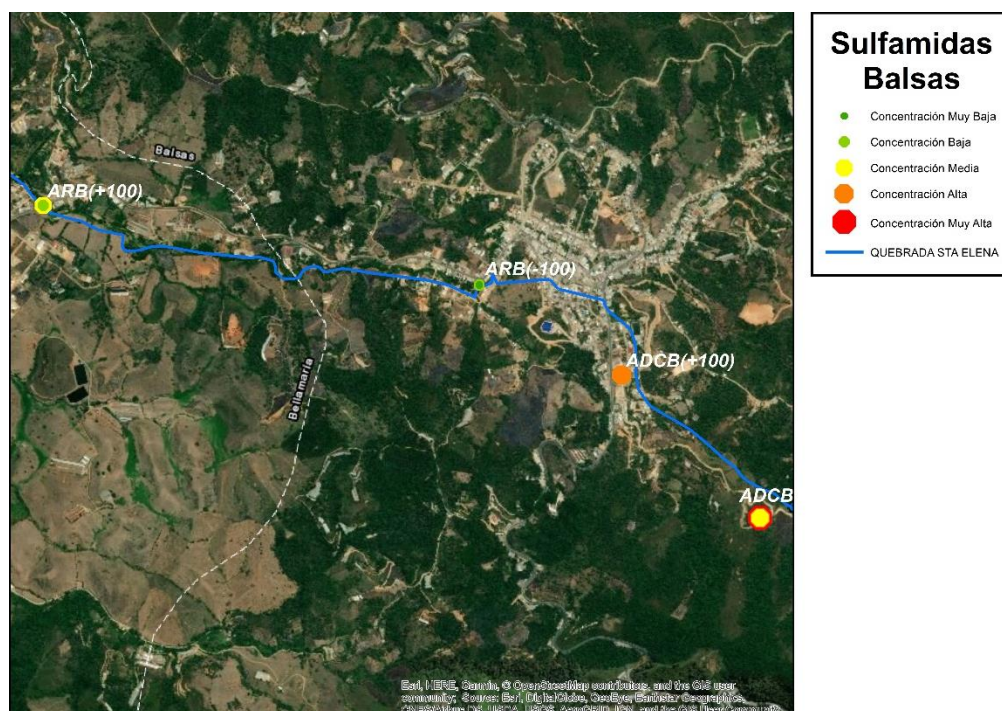
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 15: Esparcimiento de la concentración de betalactámicos a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



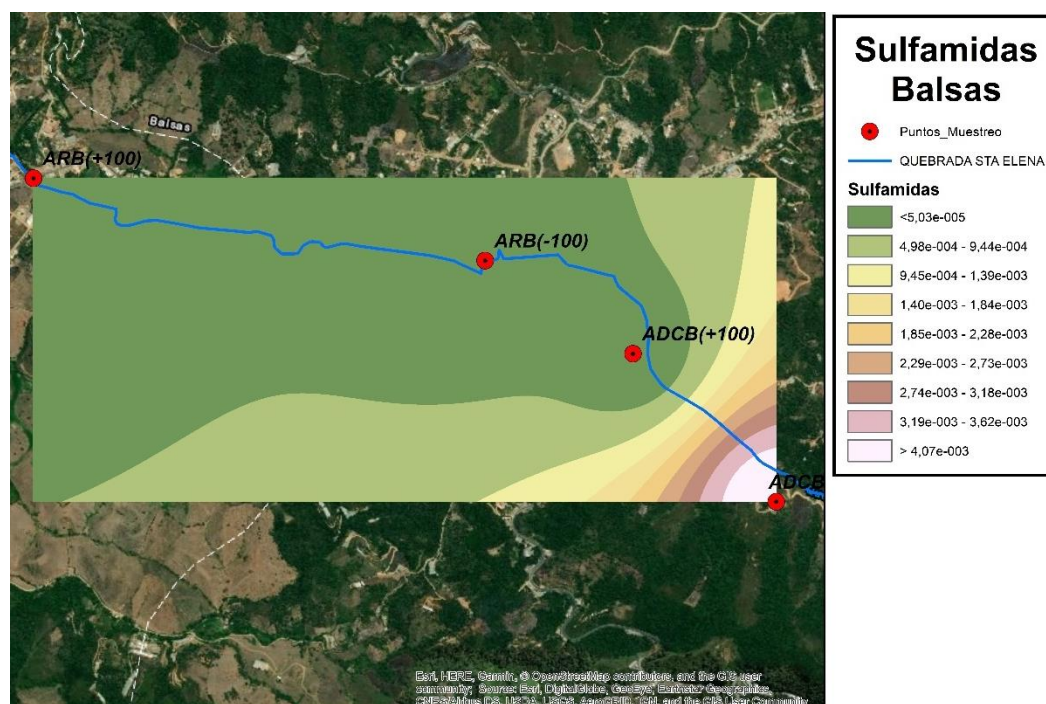
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 16: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



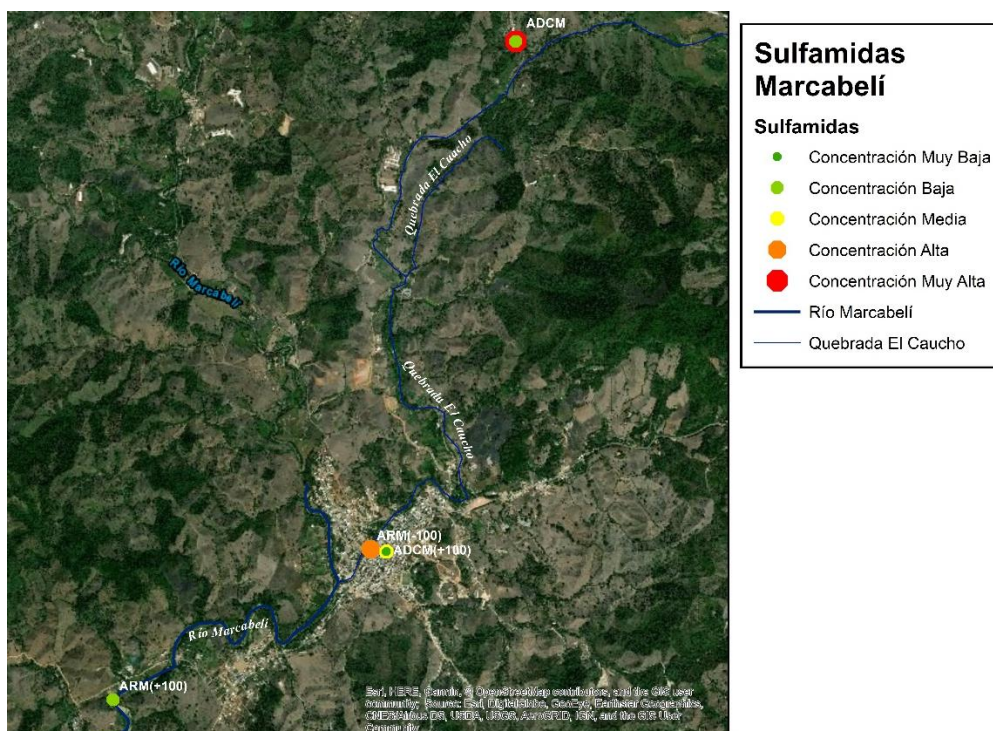
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 17: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



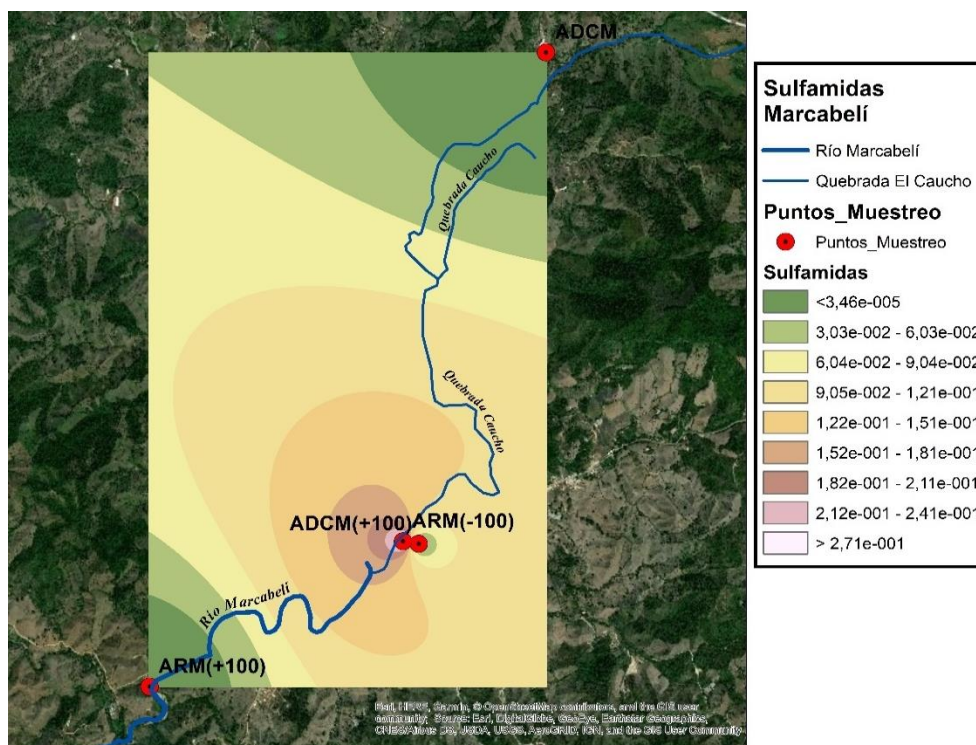
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 18: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



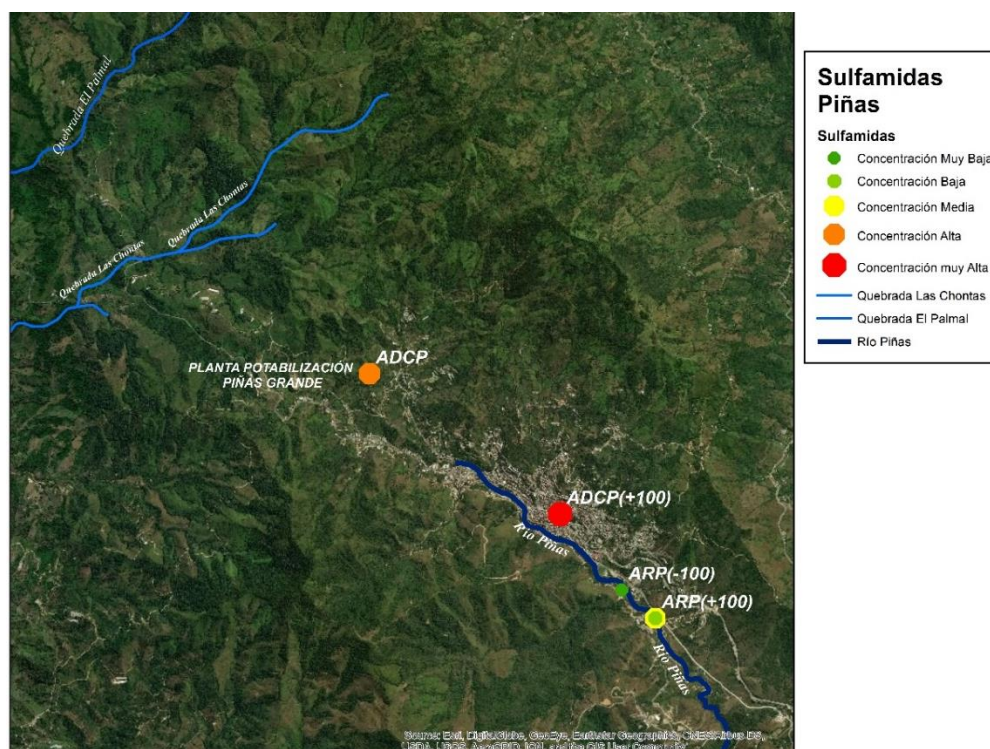
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 19: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



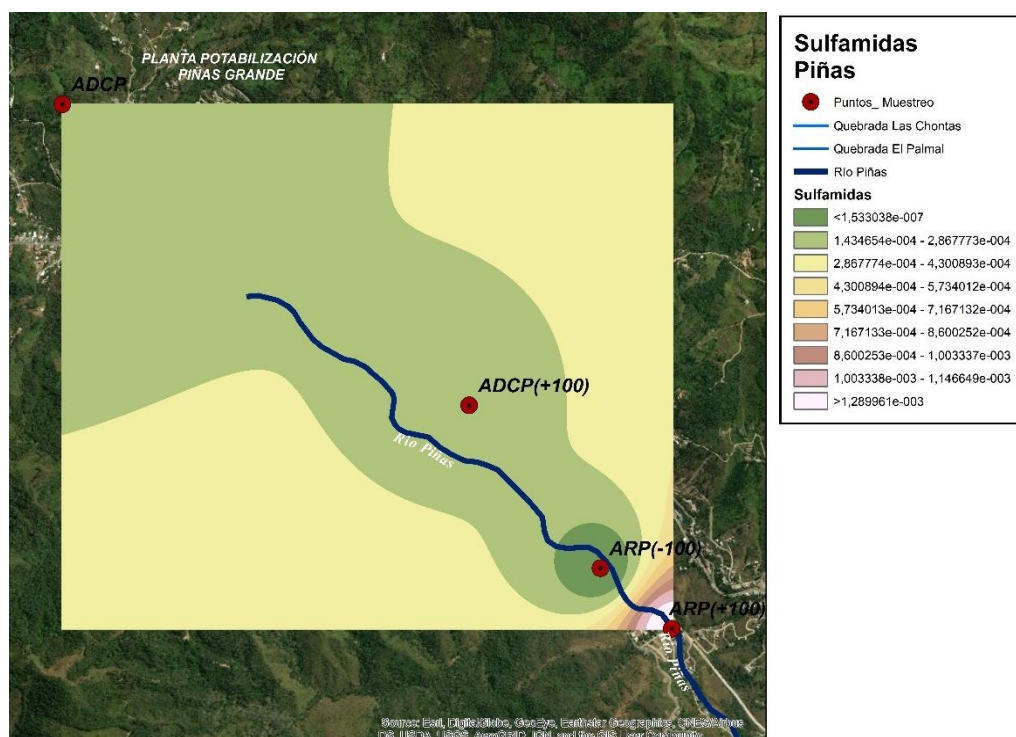
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 20: Condición de la determinación de las sulfamidas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



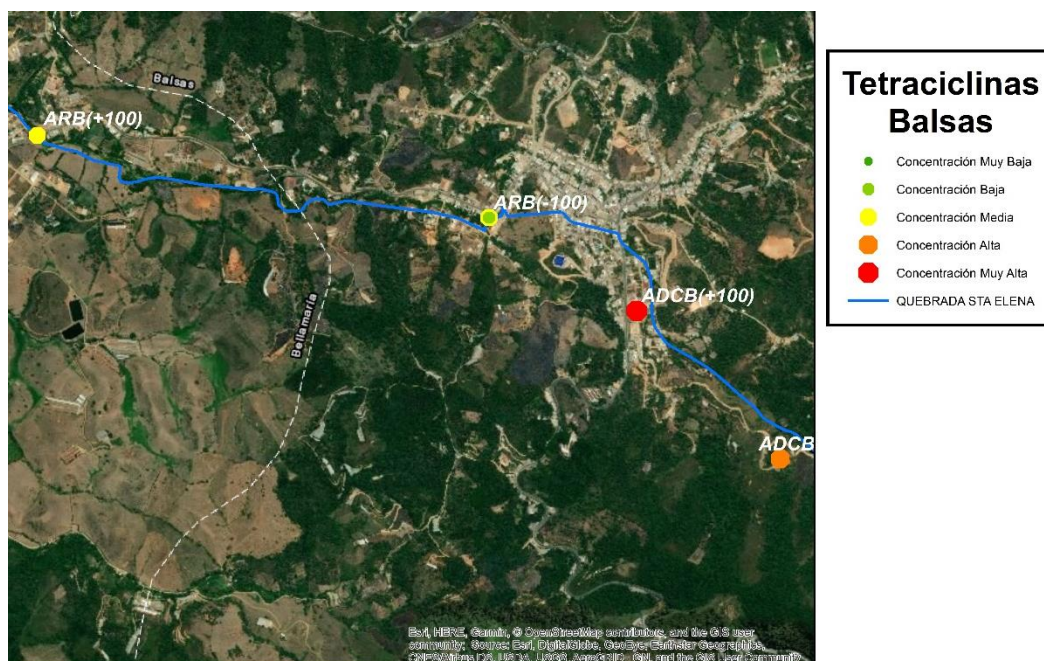
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 21: Esparcimiento de la concentración de las sulfamidas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



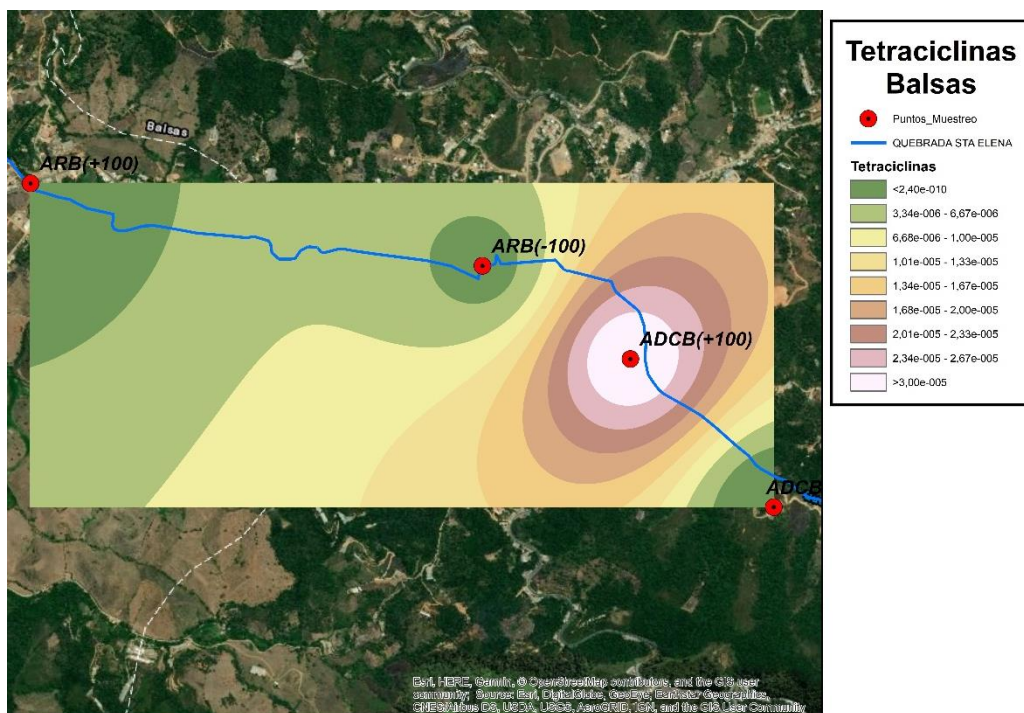
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 22: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



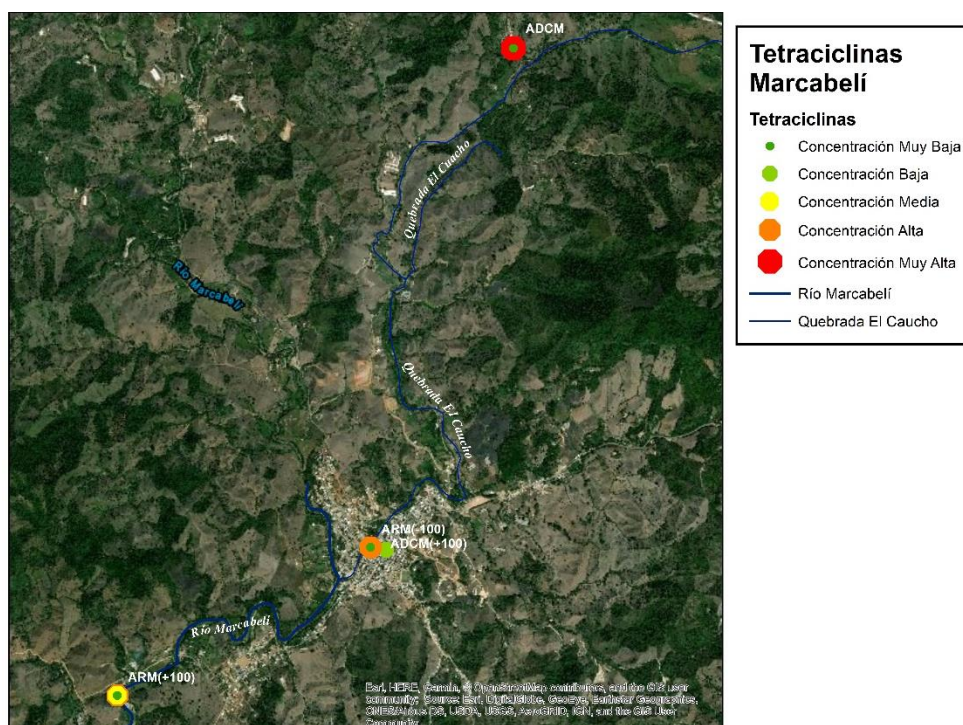
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 23: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Balsas.



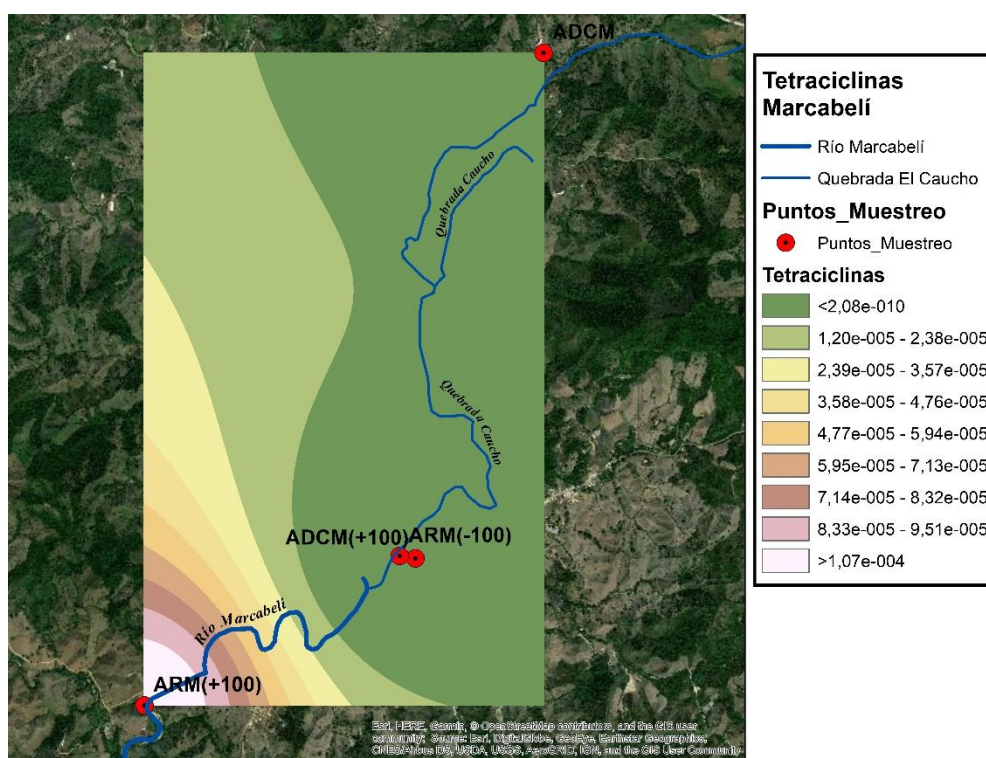
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 24: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



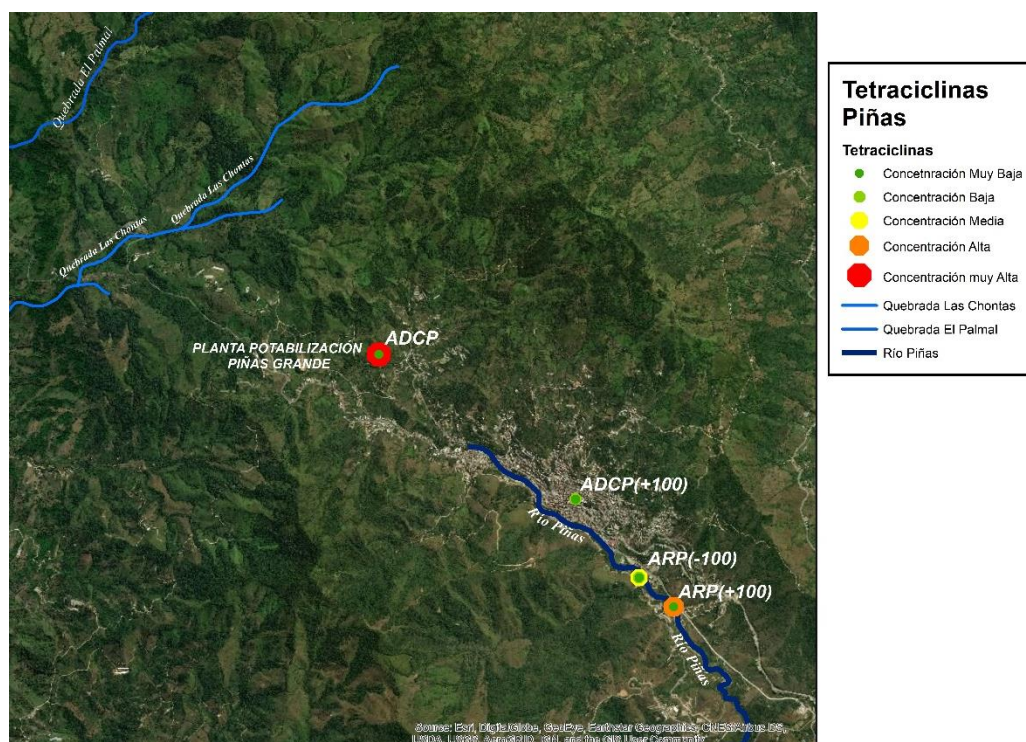
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 25: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Marcabellí.



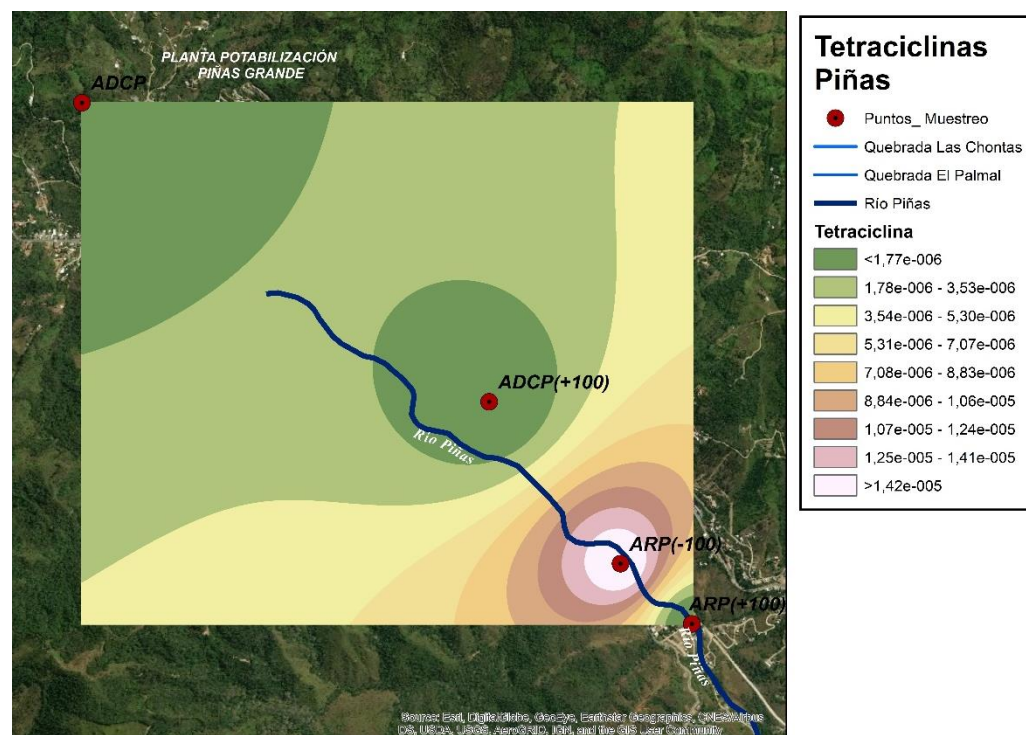
Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 26: Condición de la determinación de las tetraciclinas en los distintos puntos muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 27: Esparcimiento de la concentración de las tetraciclinas a lo largo de los puntos de muestreados en el área de estudio del cantón Piñas.



Elaborado por: Silva A. (ArcGIS 2018, 10.4.1)

Anexo 28: Pruebas de Normalidad realizada con el Programa R Studio.

```
b<-c(1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1)  
  
s<-c(1,1,0,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,  
      1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1,1)  
  
tetra<-c(1,1,1,1,0,1,0,1,1,0,1,1,  
          0,0,0,0,1,1,1,0,0,1,0,1,  
          1,1,1,0,0,1,0,1,1,1,1,0,  
          0,0,1,0,1,1,1,1,1,1,0,0)  
  
ufc<-c(0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,  
        0,78,0,0,118,27,15500,0,49,60,0,6500,  
        9.10e+03,4.50e+03,1.33e+08,1.45e+09,8.80e+03,2.19e+04,5.05e+08,1.18e+09,9.10e+03,4.50e+03,1.33e+08,1.45e+09,  
        9.07e+02,0,1.83e+07,5.17e+07,1.58e+04,2.19e+04,1.20e+08,4.67e+07,3.81e+03,4.52e+03,4.40e+03,3.05e+08)  
  
b<-factor(b,label=c('Pos'))  
s<-factor(s,labels=c('Pos','Neg'))  
tetra<-factor(tetra,labels=c('Pos','Neg'))  
#tabla <- data.frame(t,l,b,s,tetra,ufc)  
#attach(tabla)  
  
install.packages('nortest')  
library(nortest)  
x.test <- shapiro.test(ufc)  
print(x.test)  
  
y.test <- cvm.test(ufc)  
print(y.test)  
  
z.test <- ad.test(ufc)  
print(z.test)
```

Programación en R studio, estableciendo etiquetas y las primeras pruebas de normalidad “x, y, z, a y b”.

Elaborado por: Silva A. (R studio 2019)